

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

ÉTUDES SUR LES STAPHYLOCOQUES DORÉS

I. — PARALLÈLE ENTRE DIVERS STAPHYLOCOQUES DORÉS D'ORIGINE HUMAINE ET ANIMALE

par M. J. DUMAS

Parmi les germes que nous avons étudiés, se trouvent six échantillons isolés de cas de botryomycose, des « botryocoques » par conséquent. On se convaincra, à la lecture de ce travail et du suivant, que de tels échantillons ne diffèrent *en rien* des staphylocoques dorés et ne méritent pas de conserver, dorénavant, un nom spécial.

ORIGINE DES GERMES ÉTUDIÉS.

Échantillons humains.

1. Abscès superficiel du doigt (tournoiolo).
2. Panaris profond.
3. Plaie suppurée du médius.
4. Abscès de la cuisse.
5. Abscès de la paroi abdominale (dû à l'obligeance de M. Masson; origine Gosset).
6. Abscès du sein, *post partum*.
7. Abscès du sein, chez une nourrice atteinte de scarlatine.
8. Sang d'un individu mort de furonculose, au décours d'une fièvre typhoïde (observation Mosny et Dumont — dû à l'obligeance de M. Dumont).

9. Ostéomyélite (staphylocoque isolé par M. Veillon, en 1896, et conservé dans la collection de l'Institut Pasteur).

9 bis. Même échantillon, conservé, depuis 1896, par M. M. Nicolle (identique, à tous égards, au précédent).

Échantillons animaux.

10. Mammite de la chèvre (dû à l'obligeance de M. Bridré).

11. Mammite de la brebis (dû à l'obligeance de M. Bridré).

12, 13, 14, 15. Champignons de castration du cheval (origine Césari).

16. Botryomycose pulmonaire du cheval (origine Césari).

17. Botryomycose généralisée du cheval (dû à l'obligeance de M. Borrel ; origine Césari).

Avec chacun de ces échantillons, il a été fait des *séparations* et on a prélevé, dans tous les cas, *trois colonies*, dont les caractères ont été étudiés parallèlement. Pour ne pas prolonger nos recherches au delà des limites indispensables, nous avons comparé entre eux nos 17 staphylocoques (soit $17 \times 3 = 51$ origines), en choisissant les critères suivants : *forme* (dans les produits pathologiques et en culture), *caractères des cultures*, *fonction gélatinolytique*, *fonction saccharolytique*, *production d'hémolysine*, *virulence pour la souris*.

FORME.

Dans les produits pathologiques.

Sauf pour ce qui concerne les cas de botryomycose, il s'agissait toujours de *cocci*, régulièrement arrondis, disposés en amas, en diplos ou en chaînettes très courtes (3-4 éléments au maximum). Les grains botryomycotiques offraient, histologiquement, l'aspect bien connu (voir, à ce sujet, les travaux de M. Magrou).

Dans les cultures.

Milieu T (*vide infra*). Amas de 8-10 éléments en « grappe de raisin » ou chaînettes très courtes. Exceptionnellement, amas

de 3-4 *cocci* (n° 4) ou de 15-20 (n° 15). — Gélose au milieu T. Amas ou diplos.

Dans les cultures, on n'observe *aucune différence* entre les staphylocoques isolés de lésions botryomycotiques et ceux d'autres provenances.

Dans les produits et les cultures, les *cocci* prennent toujours très bien le Gram.

CARACTÈRES DES CULTURES.

Milieu T.

Employé par MM. Truche et Cotoni, dans leurs recherches sur le pneumocoque et ainsi formulé : peptone Chapoteaut 4 p. 100, sel marin 0,5 p. 100, glucose 0,2 p. 100 (alcaliniser légèrement).

Après 24 heures à 37 degrés, on observe, *dans tous les cas*, un trouble uniforme du liquide, avec présence d'un dépôt glaireux, filant, à odeur de colle. Après 2-3 jours, ce dépôt se montre plus abondant et l'on observe, d'autre part, à la surface du milieu, une collerette d'épaisseur et de teinte variables, parfois même un voile pelliculaire et discontinu. Mêmes différences de pigmentation que pour la gélose T.

Gélose T.

Après 24 heures d'étuve, on aperçoit des colonies arrondies, surélevées, à bords nets, opaques, grasses, d'un blanc-grisâtre, qui se teintent peu à peu quand on met le tube à la température ordinaire. Au point de vue de l'intensité de la pigmentation, nos échantillons se classent en trois catégories.

(1) Staphylocoques produisant une couleur jaune-doré très vive : n°s 2, 6, 7, 9, 9 *bis*, 12, 14, 15.

(2) Staphylocoques produisant une couleur moins intense et terne : n°s 1, 3, 5, 6, 8, 11, 16, 17.

(3) Staphylocoques à teinte encore plus faible et plus terne : n°s 4, 13.

Lait.

Tous les échantillons le coagulent en 24 heures, à 37 degrés, avec acidification.

FONCTION GÉLATINOLYTIQUE.

Nous avons employé la gélatine, à 10 p. 100, au milieu T. Les cultures ont été faites par piqûre et laissées à la température ordinaire.

On voit d'abord apparaître, le long de la strie d'ensemencement, un trait plus ou moins coloré, qui s'accroît lentement. Après 3-4 jours, commence la liquéfaction, laquelle aboutit à la fonte de tout le tube ou demeure incomplète, selon les cas. Lors de liquéfaction incomplète, nous n'avons jamais vu se fluidifier plus du tiers environ du milieu ensemencé.

Au bout de 8 jours, ont liquéfié tout le tube : les n^{os} 1, 3, 4, 5, 8, 10, 11, 14, 16 ; n'en ont liquéfié que le tiers : les n^{os} 2, 6, 9, 9 *bis*, 12, 13, 15, 17.

En somme, *pouvoir gélatinolytique constant*, mais d'intensité variable, chez tous les staphylocoques étudiés. Notons en passant qu'on a eu tort de dire que les staphylocoques isolés des lésions botryomycotiques se caractérisaient par une faible liquéfaction de la gélatine.

FONCTION SACCHAROLYTIQUE.

Milieu employé : peptone 2 p. 100, sel marin 0,5 p. 100, sucre 0,5 p. 100.

Tous les échantillons fermentent : la mannite, le glucose, le saccharose et le maltose — tous fermentent, également, le lactose (comme l'indique, d'ailleurs, la coagulation du lait avec acidification — *vide supra*) ; les n^{os} 1 et 14, cependant, moins que les autres — *deux*, seulement, *attaquent* la glycérine et encore avec peu d'énergie, les n^{os} 2 et 5.

PRODUCTION D'HÉMOLYSINE.

A 1 cent. cube d'une culture en milieu T, demeurée 5 jours à l'étuve, on ajoutait 1 cent. cube d'une émulsion globulaire (hématies de lapin, bien lavées avec l'eau physiologique et émulsionnées, à 5 p. 100, dans ce même véhicule). Puis, on portait à 37 degrés, pour 1, 2, 3..., et jusqu'à 24 heures.

Certains échantillons n'ont jamais hémolysé, d'autres laquaient les globules plus ou moins rapidement, comme le montre le résumé suivant :

Hémolyse complète en quelques minutes : n° 16.

Hémolyse complète en 1 heure : n° 15.

Hémolyse complète en 2 heures : n°s 3, 4, 7.

Hémolyse complète en 5 heures : n°s 6, 11, 13.

Hémolyse complète en plus de 5 heures : n°s 1, 2, 8, 10.

Hémolyse nulle après 24 heures : n°s 7, 9, 9 *bis*, 14.

Plusieurs auteurs disent que le pouvoir hémolytique s'atténue avec les années, au point même de disparaître entièrement. Il a pu en être ainsi pour les échantillons 9 et 9 *bis*, mais non pour les staphylocoques 7 et 14.

VIRULENCE POUR LA SOURIS.

On injectait, sous la peau d'animaux de 20 grammes, des cultures en milieu T (24 heures d'étuve) aux doses décroissantes de : 1 cent. cube, 10^{-1} cent. cube ($= 1/10$), 10^{-2} ($= 1/100$), 10^{-3} , 10^{-4} .

Tantôt les sujets mouraient dans un temps variable (12 heures à quelques jours), tantôt ils offraient simplement une lésion suppurative locale, avec vaste escharification des téguments. Dans les cas mortels, on n'observait, à l'autopsie, que de la congestion pulmonaire (sans doute agonique); l'examen microscopique du sang ne montrait jamais de *cocci*, il fallait la culture pour les révéler.

Classant nos staphylocoques par virulence décroissante, nous pouvons caractériser brièvement leur activité comme il suit :

N° 11. — Une colonie tue à 10^{-4} cent. cube, la 2^e à 10^{-3} , la 3^e à 10^{-2} .

N° 13. — 2 colonies tuent à 10^{-3} , la 3^e à 10^{-2} .

N°s 6 et 10. — 2 colonies tuent à 10^{-2} , la 3^e à 10^{-1} .

N° 16. — 2 colonies tuent à 10^{-2} , la 3^e à 1 cent. cube.

N°s 7, 8 et 15. — Une colonie tue à 10^{-2} , les 2 autres à 10^{-1} .

N°s 1 et 5. — 2 colonies tuent à 10^{-1} , la 3^e à 1 cent. cube.

N° 17. — 2 colonies tuent à 10^{-1} , la 3^e donne un abcès.

N°s 4 et 14. — Une colonie tue à 10^{-1} , les 2 autres à 1 cent. cube.

N°s 9, 9 *bis* et 12. — Les 3 colonies tuent à 1 cent. cube.

N° 2. — Une colonie tue à 1 cent. cube, les 2 autres donnent un abcès.

N° 3. — Abcès, à 1 cent. cube, avec les 3 colonies.

Jusqu'ici, nous n'avions noté aucune différence appréciable entre les trois colonies d'un même staphylocoque. En ce qui concerne la virulence, il ne faudrait pas s'exagérer l'importance des écarts observés. Ceux-ci, à tout prendre, ne sont pas considérables; d'autre part, *in vivo*, nous rencontrons un facteur variable, la résistance des animaux. Si nous avons inoculé, chaque fois, cent souris, les résultats moyens, obtenus avec les trois colonies d'un même germe, auraient peut-être été moins divergents.

L'étude de la virulence nous permet d'affirmer, contrairement à l'opinion de certains auteurs, que *la souris est parfaitement* (voire remarquablement) *sensible au staphylocoque*, dont elle constitue le réactif vivant le meilleur et le moins coûteux. Elle nous montre aussi que les échantillons, isolés des mammites humaines ou animales, semblent se distinguer par une grande activité; il en va de même pour certains staphylocoques de botryomycose.

CONCLUSIONS.

Les staphylocoques dorés constituent une « bonne espèce ». Les caractères communs font rarement défaut (production d'hémolysine) et des caractères particuliers apparaissent rarement (fermentation de la glycérine). Les variations demeurent presque toujours quantitatives et leurs limites peu étendues. Il ne paraît pas y avoir parallélisme entre le développement plus ou moins grand de tel caractère et celui de tel autre. *Les staphylocoques de botryomycose ne diffèrent nullement des autres*; des preuves irréfutables de cette identité seront d'ailleurs données dans le travail suivant, de M. Nicolle et Césari.

ÉTUDES SUR LES STAPHYLOCOQUES DORÉS

II. — TOXICITÉ DES ÉCHANTILLONS ÉTUDIÉS

DANS LE TRAVAIL PRÉCÉDENT.

VUE D'ENSEMBLE SUR LES STAPHYLOCOQUES DORÉS

par M. NICOLLE et E. CÉSARI

En 1896-1897, l'un de nous a fait de nombreuses expériences sur la toxine des staphylocoques dorés, avec le D^r Réfik-bey. L'échantillon, principalement étudié, nous avait été obligeamment fourni par le D^r Veillon (échantillon 9 *bis* du travail précédent); il tuait les lapins d'un kilogramme, dans la plèvre, sous le volume de 10^{-2} cent. cube (culture de 24 heures; bouillon-ascite) et donnait des filtrats susceptibles d'amener la mort des lapins de 500 grammes, sous la peau, en 3-6 jours. Le staphylocoque Veillon est devenu avirulent pour le lapin (et le cobaye), peu pathogène pour la souris et pratiquement atoxique.

Depuis cette époque, les recherches de Borrel et Bridré (mammites des brebis laitières) ont révélé l'existence de germes très actifs et permis d'obtenir des sérums, dont nous analyserons ici les propriétés. On connaît, également, le mémoire de Kraus et Pribram sur la toxine et l'antitoxine staphylococciques. Il n'y avait, cependant, aucun document concernant la toxine et l'antitoxine des botryocoques; nous espérons pouvoir combler, aujourd'hui, cette lacune.

Notre travail comprend 5 *parties*: *toxicité des filtrats* (staphylococciques et botryococciques); *toxicité* (et, du même coup, virulence) *des germes vivants*; *action du sérum Bridré* (toxine et microbes); *identité des staphylocoques et des botryocoques*; *vue d'ensemble sur les staphylocoques dorés*.

Nous avons utilisé les 17 échantillons minutieusement étudiés par Dumas (ainsi que quelques autres staphylocoques

et botryocoques). Afin d'éviter tout fléchissement de leur virulence et de leur toxicité, nous conservions, à la glacière, une grande provision de cultures (bouillon-ascite) de chaque germe, qui étaient repiquées le plus rarement possible.

Pour obtenir les *filtrats*, on ensemençait dans le bouillon-Martin glucosé (0,2 p. 100) et on passait sur Berkefeld après 5 jours d'étuve (37 degrés); pour obtenir les *microbes vivants*, on ensemençait des boîtes de Pinoy contenant de la gélose à la pomme de terre et on récoltait, le lendemain, la couche bactérienne.

Comme *animaux d'expérience*, nous avons choisi des lapins de 2.000-2.500 grammes et des cobayes (mâles) de 500-600 grammes.

Les *sérums*, que M. Bridré nous a obligeamment fournis, provenaient de moutons traités par les filtrats ou les germes vivants (mammites des brebis). Ils possédaient une activité quasi constante, quel que fût le staphylocoque ou le filtrat employé dans l'immunisation. Disons, de suite, qu'ils se sont montrés antitoxiques, mais non antimicrobiens.

Notons, également, que toxicité et virulence représentent des propriétés distinctes, bien que les échantillons toxigènes se rencontrent toujours chez les types virulents. Ajoutons, enfin, que, sur deux races incapables de donner de l'hémolysine, l'une sécrétait un poison très actif, l'autre n'en produisait pas du tout.

(Nous emploierons, presque constamment, le terme *staphylocoque*, pour désigner et *staphylocoques* proprement dits et *botryocoques*.)

TOXINE SOLUBLE

Nous prendrons, comme type de poison staphylococcique, celui que fournit l'échantillon le plus actif (mammitte de la chèvre; origine Bridré). Il s'agit, avons-nous dit, de cultures en bouillon-Martin glucosé (0,2 p. 100), filtrées après 5 jours d'étuve. La toxine ainsi obtenue a été injectée aux *cobayes* et aux *lapins*, dans les veines et sous la peau.

EXPÉRIENCES SUR LES COBAYES.

Injections intraveineuses.

2 cent. cubes tuent en 3-10 minutes, 1 cent. cube en 1/2 heure-2 heures; 1/2 cent. cube amène la mort après 1/2 journée ou demeure inefficace (dose limite). Nous distinguerons les 3 types suivants :

Mort en 3-30 minutes. — *Cliniquement.* Stupeur, exorbitisme, dyspnée, souvent paralysie du train postérieur. Puis, chute sur le côté, pauses respiratoires, convulsions, perte du réflexe cornéen, soif d'air, mort. — *A l'autopsie :* cœur généralement arrêté, d'habitude sans caillots; congestion des viscères abdominaux; poumons pâles; sang se coagulant plus ou moins lentement (caillot mou, peu ou pas rétractile).

Mort en 2 heures. — *Cliniquement.* Hébétude, dyspnée, quelquefois parésie du train postérieur. L'animal reste couché sur le ventre, lequel est gros, tendu, sensible. Finalement, mort par arrêt respiratoire. — *A l'autopsie :* mêmes lésions que précédemment; en plus : taches ecchymotiques habituelles au niveau de l'estomac et du gros intestin.

Mort en 6-12 heures. — *Cliniquement.* Poil piqué, stupeur croissante, ventre gros, sensibilité thoraco-abdominale. Puis, coma progressif, chute sur le côté, respiration d'abord intermittente, ensuite arrêtée. — *A l'autopsie :* congestion modérée des viscères abdominaux, taches nécrotiques des reins et surtout du foie (grisâtres, en jeu de patience).

Les autres échantillons de *staphylocoques* offrent une toxicité très diverse; tantôt leurs filtrats tuent à peu près comme notre « poison-type », tantôt la dose limite s'élève vers 2 cent. cubes, ailleurs 2 cent. cubes ne déterminent que des accidents transitoires, ailleurs enfin plusieurs centimètres cubes se montrent inoffensifs.

Injections sous-cutanées.

La mort n'arrive jamais, même avec 3 cent. cubes (sauf dans le cas, assez rare, de complications — pneumocoque, *pasteurella*); 3 cent. cubes, 2 cent. cubes, 1 cent. cube et aussi 1/2 cent. cube engendrent une *eschare humide*. 10^{-1} cent. cube produit une lésion moins humide (passage au « type V »). 10^{-2} cent. cube ne détermine qu'un œdème peu durable.

Nous décrirons successivement : l'*eschare humide*, la forme de transition avec le type V et ce même type V (réalisé par les

filtrats moins actifs ou par la toxine forte chauffée à 100 degrés — voir plus loin).

Eschare humide. — *Dans la journée* : œdème mou, pouvant acquérir le volume d'un œuf; tache humide étendue, atteignant et dépassant même (suivant la dose) la surface d'une pièce de 5 francs, offrant un ton varié (bleu pâle, violet, vert pâle, mélangé) et cerclée de rouge-brun ou de lie de vin. — *Le lendemain* : empâtement plus marqué; tache revêtant l'aspect d'une « peau morte », de nuance différente selon les cas (ivoire sale, saumon terne, vert-grisâtre). — *Le surlendemain* : tuméfaction stationnaire ou en décroissance; eschare moins humide (parchemin mouillé). — *Le 4^e jour* : œdème aplati et consistant; eschare brune et élastique. — *Puis* : formation d'un disque qui enchâsse la partie nécrosée; celle-ci, noir de jais, se soulève et tombe; ulcus atone, qui guérit 3 semaines après l'injection. Les animaux maigrissent plus ou moins.

Passage au type V. — *Dans la journée* : œdème mou, pouvant atteindre le volume d'un œuf de pigeon; tache bleue ou violette, bordée de rouge-brun, luisante (surface : 2 fr. et davantage). — *Le lendemain* : empâtement stationnaire; tache plus foncée et un peu humide. — *Le surlendemain*, la tuméfaction diminue, l'eschare brunit. — *Puis* : disque ferme, entourant la partie mortifiée sèche et noire; chute de celle-ci; ulcus, cicatrisé 15 jours après l'injection. Les animaux maigrissent peu.

Type V (V = tache violette). — *Dans la journée* : œdème mou, ne dépassant pas le volume d'une noix; tache de nuance variée (rose, violette, lie de vin, brunâtre, mélangée), sans humidité (surface : 1-2 fr.). — *Le lendemain* : empâtement stationnaire; tache brune. — *Le surlendemain*, la tuméfaction diminue, l'eschare noircit. — *Puis* : disque dur, enchâssant la portion nécrosée; chute de celle-ci; ulcus, qui guérit une dizaine de jours après l'injection. Emaciation nulle ou négligeable.

Les autres échantillons fournissent des filtrats d'une activité fort variable; on rencontre, en les étudiant, toute la gamme des lésions possibles, allant de l'eschare humide étendue à l'œdème transitoire discret.

EXPÉRIENCES SUR LES LAPINS.

Injections intraveineuses.

Nous ne décrivons que les effets de la « toxine-type ». 2 cent. cubes tuent en 5-10 minutes, 1 cent. cube en 1/4 d'h.-1/2 heure (rarement davantage); 1/2 cent. cube amène la mort en 12-20 heures ou demeure inoffensif (dose limite). — *Cliniquement* : mort par arrêt respiratoire, comme chez les cobayes; quelquefois diarrhée, 1 heure-1 h. 1/2 après l'injection. — *A l'autopsie* : congestion des viscères abdominaux, souvent

limitée au foie et à l'intestin grêle ; caillots intracardiaques plus fréquents que chez les cobayes.

Injectons sous-cutanées.

[Toxine-type, ici encore.] Avec 1-2 cent. cubes, eschare humide très étendue ; mort habituelle (2 jours 1/2-7 jours) par infection pneumococcique ou pasteurellique. Avec 10⁻¹ cent. cube, eschare humide moins marquée (et guérison) ou type V ou œdème transitoire (accompagné de rougeur cutanée).

Nous décrirons brièvement l'*eschare humide* et le *type V* (entre lesquels se trouvent des formes de passage).

Eschare humide. — *Dans la journée* : œdème nul ou peu accentué ; tache étendue, pouvant couvrir une surface de 10 cent. sur 5 (et davantage), verdâtre ou saumonée, luisante, cerclée de rouge-brun ou de lie de vin. — *Le lendemain* : empâtement notable, le plus souvent ; tache verte, humide, tantôt bordée de rouge brun ou de violet sombre, tantôt reposant sur un fond rouge vif ou livide. — *Le surlendemain* : tuméfaction énorme, d'habitude ; eschare offrant l'aspect d'un parchemin mouillé. — *Le 4^e jour* (quand l'animal résiste), l'eschare commence à sécher. — *Puis* — *Cas mortels* : à l'autopsie, exsudat jaune sale, infiltré de sérosité roussâtre (avec pneumocoque, *pasteurella* ou les deux, qui se retrouvent dans le sang du cœur). — *Cas curables* : l'eschare fonce ; l'empâtement se limite, durcit et devient discoïde ; la partie mortifiée « saute », laissant à sa place un ulcus qui guérit lentement (après plusieurs semaines, d'habitude ; toujours forte émaciation).

Type V. — *Dans la journée* : œdème mou, ne dépassant pas le volume d'un œuf ; tache rouge brique (surface : 2 fr. et davantage), sans humidité. — *Le lendemain*, l'empâtement s'aplatit et devient rénitent ; la tache brunit. — *Puis* : eschare noire, enchâssée par un disque ferme ; ulcus... guérison 15 jours après l'injection. Les animaux maigrissent peu.

Le *chauffage à 55 degrés* (1/2 heure) diminue l'activité de la toxine. Ce fléchissement, peu appréciable lors des injections sous-cutanées, devient évident lors des injections intraveineuses (mort plus lente, pour une même dose).

Le *chauffage à 100 degrés* (5 minutes) altère notablement le poison. 3 cent. cubes ne tuent pas dans la veine et ne donnent que le type V sous la peau.

GERMES VIVANTS

Pour comparer la toxicité des microbes vivants avec celle des filtrats, nous avons injecté des quantités variables de cultures sur gélose à la pomme de terre (24 heures-37 degrés), émulsionnées dans l'eau physiologique.

EXPÉRIENCES SUR LES COBAYES.

Injections intraveineuses.

Les *germes très virulents* tuent en 3-6 jours à la dose de 10^{-2} - 10^{-3} centigramme.

Cliniquement. Emaciation progressive. Le lendemain ou le surlendemain de l'inoculation, mauvais état général, sensibilité thoracique et abdominale. Puis, affaiblissement croissant et, quelquefois, paraplégie. — *A l'autopsie:* nécroses du foie et des reins; abcès des reins et, rarement, du myocarde et du testicule; colonies nulles ou peu abondantes sur la géloseensemencée avec le sang du cœur.

10^{-1} centigramme amène la mort après 2 jours environ (mêmes symptômes et lésions). Avec 1-2 centigrammes apparaissent les *phénomènes toxiques* aigus (les animaux succombent en 12-20 heures; staphylocoques plus ou moins abondants dans le sang du cœur).

Les *germes moins virulents* ne tuent qu'à des doses de plus en plus fortes; la survie peut atteindre 8-10 jours; les symptômes et lésions demeurent les mêmes. — Les *germes avirulents* sont impunément supportés (plusieurs centigrammes).

Injections sous-cutanées.

Les divers échantillons offrent une *toxicité* très variable, que traduisent les différences de réaction locale, pour la dose de 1 centigramme prise comme unité. A la limite, c'est un simple œdème transitoire; puis, un boubillon, parfois minime; ensuite, un boubillon compliqué d'eschare à type V; enfin, un boubillon étendu et de plus en plus complètement recouvert par une eschare humide.

La *virulence* peut être affirmée (et mesurée) lorsque, vers le 3^e-4^e jour, on voit l'eschare initiale progresser excentriquement et doubler même dans certains cas. L'activité des germes devient alors frappante quand la dose inoculée était faible (10^{-2} centigramme).

Nous décrirons les 3 *types* suivants :

Bourbillon. — *Dans la journée* : œdème mou, pouvant acquérir le volume d'un œuf de pigeon ; peau normale. — *Le lendemain*, la tuméfaction augmente habituellement d'étendue. — *Le surlendemain*, l'empâtement commence à diminuer et à durcir. — *Puis* : fluctuation, petite eschare (secondaire), ouverture, quelques gouttes de pus entourant un bourbillon jaunâtre qui s'élimine vite ; ulcus, cicatrisé 10-15 jours après l'injection virulente. Emaciation nulle ou négligeable. Parfois, pneumocoque ou *pasteurella* accompagnant le staphylocoque dans la lésion.

Bourbillon avec eschare à type V. — *Dans la journée* : œdème mou (*ut supra*) ; tache violette de nuance variable (surface : 0 fr. 20-1 fr.). — *Le lendemain*, l'empâtement augmente et la tache brunit. — *Le surlendemain*, la tuméfaction rétrocede, l'eschare prend une teinte noire. — *Puis* : disque dur, enchâssant la partie mortifiée qui se soulève et tombe ; ulcus, avec bourbillon dépassant les limites de l'eschare ; guérison 15-20 jours après l'inoculation. Les animaux maigrissent un peu.

Bourbillon de plus en plus recouvert par une eschare humide. — *Dans la journée* : œdème mou, dépassant souvent le volume d'un œuf de pigeon ; tache violette (de nuance variée) ou verdâtre ou brune et verte, toujours humide (surface : 2 fr. et davantage). — *Le lendemain* : empâtement plus étendu, quelquefois énorme ; tache humide, d'aspect différent suivant les cas (saumon sale, ivoire terne, parchemin mouillé), entourée d'un anneau brun-violet ou noirâtre. — *Le surlendemain* : tuméfaction stationnaire ; eschare brune ou « peau morte » cerclée de noir. — *Le 4^e jour*, l'œdème diminue et durcit ; l'eschare est toujours sèche à ce moment. — *Puis* : formation d'un disque qui entoure la partie nécrosée ; chute de celle-ci ; ulcus bourbillonneux... guérison 20-25 jours après l'injection. Les animaux maigrissent parfois beaucoup. — Les *complications* ne sont pas rares ; dans le cas le plus habituel, on voit l'œdème augmenter vers le 4^e jour et la peau se couvrir de lividités ; l'eschare reste molle ; les sujets meurent presque toujours (*pasteurella*).

Quand on inocule des *échantillons très toxiques*, l'eschare, plombée et suintante, peut envahir toute la face antérieure de l'abdomen. La mort est presque fatale et survient rapidement, quelquefois en 24 heures (à l'autopsie : nécroses du foie et du rein). Ces échantillons sont généralement très virulents, d'où la présence ordinaire de staphylocoques dans le sang.

EXPÉRIENCES SUR LES LAPINS.

Injections intraveineuses.

Les germes très virulents tuent en 1-2 jours, à la dose de 10^{-1} centigramme et en 1/2 journée à la dose de 1-2 centigrammes.

Mort en 1-2 jours. — *Cliniquement.* Dans la journée, rien de spécial. Le lendemain, miction par regorgement; troubles mortels subits (dyspnée, convulsions, chute sur le flanc, arrêt de la respiration) ou bien stupeur, immobilité (sur le ventre), affaissement progressif et asphyxie lente. — *A l'autopsie*: distension énorme de la vessie; épanchements pleuraux et péricardique habituels; nécroses hépatiques et rénales; abcès des reins, du myocarde, des adducteurs de la cuisse; sang stérile le plus souvent.

Mort en 1/2 journée. — Mort par arrêt respiratoire. — Epanchement péricardique; liquide diarrhéique dans l'intestin grêle; foie pâle; congestion inconstante de la rate et du tube digestif; colonies plus ou moins abondantes sur la gélose ensemencée avec le sang du cœur.

Les germes moins virulents... les germes avirulents... (mêmes réflexions que pour les cobayes).

Injections sous-cutanées.

Mêmes types que chez les cobayes; nous nous bornerons donc à les décrire sommairement.

Bourbillon. — Empâtement, qui se limite et durcit; érythème passager des téguments. Peu de tendance à l'ouverture spontanée, d'où marche traînante. Staphylocoques dans les lésions jusqu'à la fin. Peu ou pas d'émaciation.

Bourbillon avec eschare du type V. — OEdème, tache rouge brique. Cette tache brunit, puis noircit; la tuméfaction devient plate et ferme. Chute de l'eschare, ulcus, exsudat jaune... cicatrisation assez lente. Les animaux maigrissent légèrement.

Bourbillon de plus en plus recouvert par une eschare humide. — *Dans la journée*: oedème généralement nul; tache violette ou verte atteignant l'étendue de 8 centimètres sur 2 (et davantage). — *Le lendemain*: empâtement plat et peu marqué; tache verte, humide, cerclée de lie de vin (surface: 20 centimètres sur 3 et davantage). — *Le surlendemain*, tuméfaction notable et rénitente, eschare offrant l'aspect du parchemin mouillé. — *Le 4^e jour*, l'empâtement commence à diminuer, l'eschare sèche et brunit. — *Puis*: disque ferme enchâssant la partie nécrosée; chute de celle-ci, ulcus, exsudat jaune.... guérison progressive. Emaciation forte.

Les germes vivants n'apportent avec eux que peu de toxine *disponible*, comme va nous le montrer l'action de la chaleur.

Le *chauffage à 55 degrés* (1/2 heure) rend inoffensive l'injection intraveineuse de 1-2 centigrammes : sous la peau, on n'obtient plus que le type V.

Le *chauffage à 100 degrés* (5 minutes) détermine exactement les *mêmes effets*. Il persiste donc, au sein des corps microbiens, des traces de poison que leur siège profond rend quasi indifférentes à l'influence thermique.

ACTION DU SÉRUM BRIDRÉ SUR LA TOXINE ET LES GERMES VIVANTS

TOXINE.

Sérum préventif (la veille, dans les muscles gastrocnémiens).

Contre l'injection intraveineuse. — 2 cent. cubes de sérum rendent absolument inoffensif 1 cent. cube de toxine.

Contre l'injection sous-cutanée. — 4 cent. cubes de sérum ramènent au type V l'eschare engendrée par 1/2 cent. cube de toxine et en diminuent la surface ; ils ramènent au type, intermédiaire entre l'eschare humide et la forme V, la nécrose produite par 1 centimètre cube de toxine et en diminuent la surface. — 2 cent. cubes de sérum se comportent, vis-à-vis de 1/2 cent. cube de poison, comme 4 cent. cubes de sérum vis-à-vis de 1 cent. cube.

Sérum par mélange (1/2 heure de contact,
température ordinaire).

Contre l'injection intraveineuse. — 1/2 cent. cube de sérum neutralise complètement 2 cent. cubes de toxine.

Contre l'injection sous-cutanée. — De même.

Sérum simultané (dans la veine — sous la peau le sérum demeure inefficace).

Contre l'injection sous-cutanée. — 2 cent. cubes de sérum ramènent au type V l'eschare engendrée par 1 cent. cube de toxine et en diminuent la surface.

Le sérum Bridré jouit donc de propriétés antitoxiques indéniabiles. Comme il fallait s'y attendre, il se montre plus actif par mélange que préventivement ou simultanément. Pourquoi, administré la veille, rend-il l'animal tout à fait réfractaire contre l'injection intraveineuse, si sévère et incomplètement contre l'injection sous-cutanée, bénigne en soi ? Il est facile de le comprendre. Lors de l'injection intraveineuse, on oppose un anticorps déjà « dilué » dans la masse de l'organisme à une toxine qui sera rapidement « diluée », elle aussi ; tandis que, lors de l'injection sous-cutanée, on oppose le même anticorps « dilué » à la toxine « concentrée » sur une faible étendue — toxine *peu résorbable*, car elle ne tue pas. Nous avons trouvé jadis, avec Loiseau et Forgeot, que l'administration préventive de sérum spécifique empêche toujours la mort des cobayes chez lesquels on introduit, par la voie hypodermique, le poison (*très résorbable*) du bacille Preisz-Nocard, mais ne neutralise point aussi aisément l'eschare locale. Dans ce cas, l'antitoxine diluée agit sans peine sur la toxine résorbée et diluée, difficilement et incomplètement sur la toxine demeurée *in situ* et plus concentrée. L'un de nous, avec Loiseau, a publié des faits de même ordre concernant le poison diphtérique ; ils s'expliquent pareillement.

GERMES VIVANTS.

Sérum préventif.

Contre l'injection intraveineuse (10^{-1} centigramme). — 2 cent. cubes de sérum demeurent inefficaces.

Contre l'injection sous-cutanée. — 2 cent. cubes de sérum réduisent les dimensions de l'eschare (humide) qui succède à l'inoculation de $1/2$ centigramme de germes.

Sérum par mélange.

Contre l'injection intraveineuse (10^{-1} centigramme). — 1 cent. cube de sérum reste sans effet.

Contre l'injection sous-cutanée. — 1 cent. cube de sérum ramène au type V l'eschare engendrée par 1 centigramme,

mais n'empêche pas la formation du bourbillon ; l'eschare peut même « repartir » le lendemain de l'injection et s'accroître légèrement.

Sérum simultané (dans la veine).

Contre l'injection sous-cutanée. — 1 cent. cube de sérum agit comme 2 cent. cubes, préventivement, pour 1/2 centigramme de germes ; 2 cent. cubes, comme 1 cent. cube, par mélange, pour 1 centigramme.

Le sérum Bridré ne jouit donc pas de propriétés antivirulentes, au moins chez le cobaye et le lapin. Quand on inocule des germes vivants, il neutralise la toxine disponible et une fraction variable (selon les conditions expérimentales) de celle qui se trouve produite in vivo ; rien de plus.

IDENTITÉ DES STAPHYLOCOQUES ET DES BOTRYOCOQUES

Elle est établie par trois ordres de faits.

(1) Identité des caractères morphologiques, culturels et biologiques ; identité des résultats obtenus *in vivo*, chez la souris (Dumas).

(2) Présence de *grains* types, dans les abcès du rein de nos cobayes, inoculés avec divers staphylocoques et botryocoques (voie intraveineuse) ; présence de grains types, dans le testicule des cobayes inoculés (localement) avec divers staphylocoques et botryocoques (Magrou).

(3) Identité des effets déterminés, chez le cobaye et le lapin, par l'injection des staphylocoques et des botryocoques ou de leurs toxines. Neutralisation de toutes ces toxines par le sérum Bridré et par le sérum des chevaux atteints de botryomycose.

Nous avons pu nous convaincre, en effet, que le sérum de deux chevaux, pris au hasard (champignon de castration et botryomycose généralisée), se comportait absolument comme le sérum Bridré ; il n'était pas antimicrobien non plus.

C'est le second exemple connu d'un pouvoir antitoxique, chez les sujets affectés de maladies bactériennes chroniques. Le premier, fourni également par nous (avec Loiseau et Forgeot), concernait les chevaux atteints d'infections à bacilles de Preisz-Nocard.

Nous venons de parler de l'inoculation intratesticulaire des staphylocoques ou botryocoques. Elle permet de reproduire, avec la toxine introduite à l'état de germes vivants, la série entière des réactions possibles, depuis l'empoisonnement rapide et l'escharification massive (réalisés aussi par la toxine soluble) jusqu'au bourbillon et au granulome (inconnus pour les filtrats). La toxine « soluble » diffuse très vite et tout se joue presque immédiatement ; la toxine « solide », émise pendant une durée variable et en quantité variable dans l'unité de temps, peut déterminer non seulement des effets brutaux, mais encore des effets de plus en plus ménagés, comme nous allons le voir.

Quand on injecte, par la voie intratesticulaire (cobaye), des dilutions de richesse décroissante (staphylocoques ou botryocoques), l'animal qui reçoit la dose maxima meurt après quelques heures ; le second fait une eschare humide (orchite « gangréneuse », si l'on veut employer la dénomination fautive servant à caractériser les mammites correspondantes) ; le troisième, un abcès (plus exactement, un bourbillon) ; le quatrième, un abcès (bourbillon) avec des *grains* ; le cinquième, un granulome (cellules épithélioïdes et géantes). Nous avons schématisé quelque peu les résultats, mais les choses se passent ainsi, *grosso modo* (expériences de Magrou). On saisit bien l'importance de la *vitesse de réaction*, au regard d'une toxine toujours la même.

VUE D'ENSEMBLE SUR LES STAPHYLOCOQUES DORÉS

Voici, d'après les recherches des auteurs, celles de Dumas et les nôtres, l'idée qu'on peut se faire actuellement du groupe des staphylocoques dorés.

Les staphylocoques dorés jouissent d'une *grande ubiquité*. On les rencontre dans le *milieu extérieur* et à la surface de la *peau* et des *muqueuses* (de l'homme et des animaux sains).

Ils occasionnent, chez l'homme : le furoncle, l'anthrax, l'impétigo, l'ecthyma, divers types de folliculites ; des abcès superficiels, profonds et viscéraux ; des catarrhes purulents des muqueuses et des épanchements purulents des séreuses ; l'ostéomyélite classique ; la pyohémie (presque inconnue aujourd'hui). *Ils déterminent, chez les animaux* : des suppurations variées ;

des mammites « gangréneuses » (brebis, chèvre); la botryomycose (cheval — les cas *authentiques* de botryomycose humaine semblent bien rares). Suivant les conditions de l'infection naturelle, ils produisent *localement* des nécroses, des suppurations ou des granulomes. Ils peuvent aller former *au loin* des foyers métastatiques, mais ne provoquent jamais de septicémie vraie. Par leurs propriétés toxigènes, ils engendrent diverses *altérations viscérales*, aiguës ou chroniques (parmi ces dernières, la dégénérescence amyloïde).

Ce sont, d'ordinaire, des *cocci*, régulièrement arrondis et prenant le Gram. Dans les *grains* botryomycotiques, ils s'élèvent en organisation, grâce à une symbiose avec les éléments des tissus, perdent leur caractère univoque et revêtent l'aspect de *myrobactéries* véritables, comme cela se voit, d'ailleurs, pour tous les grains, quel que soit le microbe causal. (Les recherches de Pinoy et de Magrou imposent la conception précédente.)

Ils se développent abondamment *in vitro*, produisant un pigment d'intensité variable. Ils liquéfient la gélatine, coagulent le lait, fermentent divers sucres et sécrètent habituellement de l'hémolysine.

Ils tuent presque toujours la *souris* sous la peau (cultures du sang positives), assez souvent le *cobaye* et le *lapin* dans les veines (affaire de dose et, surtout, de virulence). Chez le cobaye et le lapin, l'*injection hypodermique* peut déterminer les lésions suivantes (gamme montante) : simple œdème; bourbillon; bourbillon, avec eschare du type V; bourbillon, avec eschare humide (celle-ci susceptible, parfois, de progresser momentanément) — l'*injection intraveineuse* peut amener la mort plus ou moins vite (abcès du rein, du myocarde, des muscles; nécroses rénales et hépatiques; cultures du sang positives dans le cas d'issue précoce).

Suivant son activité, la *toxine staphylococcique* engendre, sous la peau : l'œdème, l'eschare du type V, l'eschare humide; dans les veines, les bons filtrats font périr rapidement les animaux, par un mécanisme que nous étudierons ailleurs. Le poison fléchit déjà vers 55 degrés et s'altère beaucoup vers 100 degrés. Quand on l'administre à l'état de germes vivants, on peut voir apparaître, lors des injections hypodermiques, la

lésion bourbillon, caractéristique des toxines « solides » et inconnue avec les toxines « solubles » — on peut voir apparaître, lors des injections intraveineuses, les foyers métastatiques, analogues, eux aussi, aux bourbillons — on peut voir apparaître, enfin, lors des injections intratesticulaires, bourbillons ou granulomes, selon la vitesse réactionnelle.

Le sérum Bridré et celui des chevaux atteints de botryomycose n'offrent que des propriétés antitoxiques. Il n'existe point, actuellement, de sérums antimicrobiens correspondants (du moins, que nous sachions).

Quelle idée doit-on se faire des *staphylocoques blancs*? Ce sont des germes chez lesquels la disparition de la fonction chromogène va *souvent, mais non forcément*, de pair avec le fléchissement de la toxicité et de la virulence. M^{lle} Raphaël (recherches inédites), comparant des staphylocoques dorés et blancs, qui coexistaient dans les mêmes pus (abcès du sein, infections ombilicales des nouveau-nés; origine Durante), a toujours vu les seconds rester bien au-dessous des premiers comme pouvoirs toxigène et pathogène. Par contre, Bürgi a isolé des *albi* très actifs chez des lièvres naturellement infectés.

Le *staphylocoque citrin* ne semble différer de l'*aureus* que par la nuance des colonies (recherches inédites de M^{lle} Raphaël).

Le *staphylocoque hémorragique* de Klein, c'est le staphylocoque de Borrel et Bridré occasionnant, non plus la mammite, mais la vulvite « gangréneuse » des brebis (*post partum*); il détermine, chez les individus qui dépècent les animaux infectés, des panaris phlycténulaires très étendus.

La question des staphylocoques, déjà fort avancée, le sera encore beaucoup plus quand on aura approfondi l'étude des *tétragènes*. On souhaite vivement de savoir s'il s'agit de germes identiques ou différents.

RECHERCHES HISTOLOGIQUES

SUR LES GLANDES SALIVAIRES DANS LA RAGE

par Y. MANOUÉLIAN

(de l'Institut Pasteur.)

(Avec les planches X et XI.)

DE L'EXISTENCE DES CORPUSCULES DE NEGRI DANS LES GANGLIONS NERVEUX DES GLANDES SALIVAIRES.

Depuis Negri, on sait qu'il existe, dans le système nerveux central — dans la corne d'Ammon notamment — des animaux atteints de rage, des corpuscules spécifiques, souvent mûri-formes, siégeant dans le cytoplasme des cellules nerveuses. Ces corpuscules étant presque constants présentent une grande valeur pour le diagnostic de cette maladie.

Nous nous sommes demandé si ces corpuscules existaient dans les glandes salivaires des animaux enragés; nous avons examiné à cet effet la glande sous-maxillaire et la parotide chez un assez grand nombre de sujets. Nous relaterons pour le moment nos recherches faites chez une vingtaine de chiens dans le cours de la *rage des rues* (1).

Nous affirmons qu'il n'existe pas de corpuscules dans le parenchyme glandulaire : cellules des acini et des canaux excréteurs; mais on en trouve toujours et en grand nombre dans le cytoplasme des cellules nerveuses des ganglions qu'on rencontre constamment dans le tissu interstitiel de ces glandes (planche X, fig. 1).

Il y a pourtant des causes d'erreur sur lesquelles nous tenons à insister : la confusion possible, par les chercheurs peu

(1) Y. MANOUÉLIAN, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 10 novembre 1913, p. 866 et 1^{er} décembre 1913, p. 1089.

Pour la technique employée, voir notre travail dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, décembre 1912, p. 974. Par suite d'un mauvais repérage, les figures qui accompagnent ce mémoire ne donnent qu'une idée incomplète et même inexacte des beaux dessins exécutés par M. Constantin, l'artiste dessinateur.

avertis, des corpuscules d'origine leucocytaire et de débris de cellules glandulaires avec les corps de Negri.

En effet, chez les chiens atteints de rage des rues on constate une invasion considérable de leucocytes polynucléaires dans les acini et les canaux excréteurs. Ces éléments se détruisent vite : leur noyau se fragmente en granulations qui présentent des vacuoles et des sphérules dans leur intérieur et, de basophiles qu'elles étaient, deviennent acidophiles (planches X et XI, fig. 3 et 9). La méthode de Mann les colore alors en rouge ; puis ces granulations deviennent de plus en plus pâles. Nous suivrons bientôt toutes les phases du processus qui aboutit en certaines régions à la transformation complète du parenchyme glandulaire. Pour le moment, mettons en garde les auteurs qui, après un examen superficiel, pourraient prendre ces débris d'origine nucléaire pour des corpuscules de Negri.

Il existe aussi d'autres formations plus rares, de volume plus considérable, qui pourraient donner le change. Il s'agit de résidus de cellules glandulaires ayant subi la dégénérescence hyaline. On y constate l'existence d'inclusions rappelant celles des corpuscules de Negri.

Comme nous l'avons dit, dans les glandes salivaires il existe de nombreux centres nerveux : les uns microscopiques, les autres visibles à l'œil nu sur des coupes colorées ; tous ces ganglions sont composés de cellules à type sympathique. Or, nous savons que dans la rage, les ganglions sympathiques présentent comme les ganglions cérébro-spinaux — à un degré moins marqué toutefois — diverses lésions dégénératives des cellules nerveuses, et surtout les lésions décrites pour la première fois par van Gehuchten et Nélis. Il s'agit d'une invasion de mononucléaires qui finissent par détruire et faire disparaître la cellule nerveuse altérée sous l'influence du virus rabique et s'installent à sa place ; dans les ganglions nerveux des glandes salivaires, on peut rencontrer ces lésions.

De plus, nous savons qu'il existe des corpuscules de Negri dans les ganglions spinaux ainsi que dans les ganglions sympathiques. Dans nos coupes de glandes salivaires rabiques le cytoplasme des cellules nerveuses renfermait un grand nombre de corpuscules de Negri, alors que nous n'en avons jamais

observé dans les cellules glandulaires, ni dans la lumière des acini, ni dans celle des canaux excréteurs.

Nous ferons remarquer un fait qui montre combien ces corpuscules sont particuliers aux cellules nerveuses. Dans les troncs nerveux qui accompagnent les vaisseaux des glandes, on trouve par places de petits amas de cellules nerveuses et même une cellule nerveuse unique; le cytoplasme seul de l'élément nerveux contient des corpuscules de Negri à l'exclusion de tous les tissus constituant de ces glandes (planche X, fig. 2).

ÉTUDE DE LA DESTRUCTION DES ACINI.

Les acini sont le siège de modifications profondes et très importantes; nous allons en étudier en détail le mécanisme.

Invasion des polynucléaires, leur destruction, et phagocytose par des macrophages de tout le contenu acinien: voilà les différentes phases du processus qui aboutit à la transformation complète des acini en un amas de macrophages.

En effet, dans une première phase, on constate la pénétration de leucocytes polynucléaires dans les cellules des acini. L'existence de ces leucocytes est bien éphémère; probablement sous l'influence du virus rabique ils se désagrègent vite, leur noyau se fragmente et se réduit en quelques granulations. Cette destruction de polynucléaires paraît un fait important, indispensable pour l'accomplissement du cycle complet de la phagocytose. Il semble que, pour être phagocytées par les macrophages, les cellules des acini ont besoin d'être fortement touchées et sensibilisées par la ou les substances que la polynucléolyse mettrait en liberté. Car *c'est juste en ce moment* que ces cellules, qui généralement jusqu'alors présentaient des altérations relativement peu considérables, accusent des lésions graves; à la suite de la destruction de leur noyau, elles se trouvent réduites à des masses parsemées de granulations (pl. X, fig. 3). On assiste alors à l'un des plus remarquables exemples de phagocytose.

Certains éléments mononucléaires des macrophages d'une plasticité très grande dont le cytoplasme contient de fines et nombreuses granulations basophiles, s'attaquent aux éléments

qui s'y trouvent, restes de cellules aciniennes et débris de polynucléaires, les incorporent et les digèrent (pl. X et XI, fig. 6, 8 et 9). Pendant cette période d'activité, il n'est point rare de rencontrer dans les acini des macrophages en division mitotique (pl. X, fig. 4).

La voracité de ces éléments est telle qu'ils ne s'attaquent pas seulement aux débris cellulaires, mais même aux polynucléaires peu modifiés quant à leur forme.

Pendant cette phagocytose, l'aspect des macrophages est frappant : chez un grand nombre, le noyau est refoulé tout à fait vers la périphérie, une mince bande de cytoplasme entourant le corps englobé ; il en est qui présentent des cloisons cytoplasmiques, formant ainsi des cavités où se trouvent ces corps.

Toutes les cellules des acini finissent par subir le même sort ; il arrive ainsi un moment où on ne trouve dans les acini que des macrophages en train de digérer les éléments englobés. Une fois l'acte de phagocytose terminé, le cytoplasme se condensant autour du noyau, ces macrophages deviennent plus ou moins ovoïdes : c'est leur forme de repos. Il existe des acini où on ne trouve que de pareilles cellules groupées ensemble. La transformation est complète ; de l'acinus glandulaire il n'existe nulle trace, les macrophages y ayant pris droit de cité. Il y a des régions où, à la suite de la destruction du tissu conjonctif périacineux, un grand nombre d'acini ainsi transformés se confondent ensemble, et on se trouve en présence de zones où l'histologiste le plus compétent dans la matière ne pourrait soupçonner qu'il a sous les yeux une coupe de glande salivaire (pl. XI, fig. 9, partie centrale).

Quelles sont les modifications des canaux excréteurs ?

Comme dans les acini, les leucocytes polynucléaires pénètrent dans les cellules épithéliales des canaux excréteurs en creusant des vacuoles dans le cytoplasme ; il existe à ce niveau un certain degré de polynucléolyse, mais ici le processus est beaucoup plus discret. Ce qu'il y a de remarquable, c'est le passage des polynucléaires en très grand nombre dans la lumière du canal où la polynucléolyse devient plus intense. Un fait important et fréquent aussi, c'est la chute des cellules glandulaires dans la lumière ; on y rencontre un certain nombre de

cellules aciniennes facilement reconnaissables à leur structure aréolaire, et surtout des cellules propres des canaux (pl. X, fig. 5).

Cellules aciniennes, cellules des canaux excréteurs, *un nombre fort considérable de polynucléaires*, quelques macrophages et des masses amorphes se colorant fortement en bleu par le bleu polychrome de Unna, en violet par la méthode de Mann, voilà ce qui constitue les éléments figurés de la bave chez le chien atteint de rage des rues.

CONCLUSIONS.

De l'ensemble de nos recherches sur les glandes salivaires chez le chien dans la rage des rues, il résulte :

1° Qu'il existe des corpuscules de Negri, et en grand nombre, seulement dans le cytoplasme des cellules nerveuses des ganglions intraglandulaires, et jamais dans les cellules épithéliales des acini, ni dans celles des canaux excréteurs ;

2° Les cellules aciniennes sont le siège d'altérations profondes, leur débris sont phagocytés par les macrophages qui s'installent à leur place, de sorte que, finalement, les acini ne sont représentés que par des amas de macrophages ;

3° Quant à la bave, nous venons de voir quels en sont les éléments figurés.

15 Décembre 1913.

EXPLICATION DES PLANCHES X et XI

Sauf la figure 7, qui représente une coupe de glande sous-maxillaire dans la rage humaine, tous les autres dessins proviennent des coupes de glandes salivaires rabiques de chien. Les figures 6, 7 et 8 se rapportent à des préparations colorées au bleu polychrome de Unna ; quant aux autres figures, elles représentent des coupes traitées avec la méthode de Mann.

FIG. 1. — Portion de ganglion nerveux intraparotidien. Grossissement 700 diamètres. On voit des corps de Negri dans le cytoplasme des cellules nerveuses.

FIG. 2. — Coupe de la parotide. 600 diamètres. Acini normaux et altérés. Il existe aussi deux cellules nerveuses contenant des corps de Negri ; l'une des cellules se trouve immédiatement à côté d'un tronc nerveux.

FIG. 3. — Polynucléolyse au niveau des acini. 720 diamètres.

FIG. 5. — Coupe de canal excréteur. 800 diamètres.

FIG. 7. — Coupe de glande sous-maxillaire dans la rage humaine. 110 diamètres.

FIG. 4. — 100 diamètres, figures 6 et 8, 900 diamètres ; figure 9, 800 diamètres. Phénomènes phagocytaires dans les acini. On voit en outre à gauche de la figure 9 un certain degré de polynucléolyse dans les acini.

ESSAIS DE CHIMIOTHÉRAPIE
COMBINAISONS
DES SELS D'ARGENT ET DES COMPOSÉS ARSENICAUX
DANS LE TRAITEMENT DES TRYPANOSOMIASES EXPÉRIMENTALES
ET DE LA SYPHILIS CHEZ L'HOMME

par J. DANYSZ

Une série d'études sur les propriétés antiseptiques de différents sels métalliques, et ensuite sur l'action de ces sels sur le sang normal et les sérums spécifiques m'ont amené à conclure que de tous ces produits, les sels d'argent possèdent la plus grande puissance microbicide par rapport à leur toxicité et modifient le moins les propriétés normales du sang et des sérums spécifiques, antitoxiques ou antimicrobiens.

Ainsi, j'ai pu constater que les dilutions à 1/10.000 ne modifient en rien les propriétés des sérums antidiphtérique, antipesteux ou antityphique, que les dilutions à 1/1.000 n'exercent aucune action appréciable sur les éléments du sang.

Orfila donnait aux chiens 4,38 grammes (un drachme) de nitrate d'argent en pilules, par jour, pendant quatre jours de suite sans observer d'accidents appréciables. Charcot, qui a fait en même temps que Vulpian, Cruveilhier et d'autres de nombreux essais sur l'action physiologique et thérapeutique des sels d'argent sur l'homme, écrit à ce sujet (1):

« Le fait capital qui ressort de nos observations sur ce point, c'est la *tolérance* de l'économie pour cet agent médicamenteux. »

Ces savants n'ont jamais observé de cas d'empoisonnement proprement dits et les cas d'*argyrie* n'étaient observés qu'après l'absorption de 30 grammes de nitrate d'argent. Ils ont noté, par contre, qu'un traitement prolongé par ce produit peut très favorablement influencer certaines affections nerveuses qui,

1) CHARCOT et BALL, *Encyclopédie des sciences médicales* de A. DECHAMBRE, VII, p. 57.

nous le savons aujourd'hui, sont dus à l'infection par les spirochètes.

Je me suis donc attaché avant tout à l'étude des propriétés thérapeutiques des sels d'argent et notamment de l'azotate, mais j'ai reconnu bien vite que, sous cette forme, c'est-à-dire à l'état de sel pur, l'argent ne pouvait donner que des résultats peu appréciables. En effet, introduit dans l'organisme en solutions très étendues ($1/80.000$ à $1/100.000$), il n'influence pas sensiblement les infections microbiennes, et en solutions plus concentrées il se fixe sur les tissus avec plus d'énergie, de sorte que le résultat est le même, avec cette aggravation dans le dernier cas que, employé en injections intraveineuses, le nitrate d'argent produit des durcissements des veines sur une assez grande étendue à partir du point d'introduction et parfois des accidents plus graves pouvant amener à la longue l'atrophie complète de ces vaisseaux.

J'ai alors cherché à combiner l'argent à d'autres substances possédant des affinités spéciales pour certains micro-organismes et à l'obtenir sous forme dissimulée de façon à diminuer son affinité pour les tissus.

Tout d'abord, j'ai cherché à combiner l'argent avec des couleurs d'aniline et j'ai constaté qu'en ajoutant une solution de nitrate d'argent à une solution d'éosine, on obtient un précipité qui se redissout par l'addition de chlorure de sodium. La quantité de NaCl qu'il faut ajouter pour dissoudre le précipité est proportionnelle à la quantité d'argent fixé.

L'argent est donc dissimulé dans ce composé, mais sa fixation n'est pas très solide, ni très stable. Le précipité séché ne se redissout plus dans l'eau salée.

En solution très étendue ($1/50.000$ à $1/100.000$), ce composé m'a permis de traiter avec succès le chancre syphilitique de quatre lapins qui m'ont été obligeamment cédés par M. Levaditi. Deux ou trois injections dans les veines, de 0,20 milligramme (10 à 20 cent. cubes de liquide) chacune, guérissaient en trois semaines de très gros chancres syphilitiques. Les tréponèmes disparaissaient quatre ou cinq jours après le début du traitement et on constatait en même temps un ramollissement du pourtour induré du chancre.

J'ai obtenu des résultats analogues chez quatre singes (rhesus)

chez lesquels on a provoqué la formation de chancres syphilitiques sur l'arcade sourcilière avec le virus humain.

Essayé dans la paralysie générale d'origine syphilitique, par le Dr Auguste Marie et moi, le même composé nous a donné les résultats suivants :

Trois malades de l'asile de Villejuif ayant donné une réaction de Wassermann positive ont reçu trois injections de 5 milligrammes chacune dans 250 cent. cubes d'eau distillée à huit jours d'intervalle.

Un quatrième malade a reçu quatre de ces injections dans les mêmes conditions. Donc les trois premiers ont reçu 15 milligrammes, le dernier 20 milligrammes d'éosinate d'argent en tout.

Trois mois après ce traitement, on a essayé sur tous les malades de l'asile atteints de paralysie générale, la réaction à la luétine et on a constaté une différence bien marquée en faveur de tous les malades traités par nous. Les trois premiers ont montré une réaction fortement atténuée, le quatrième, une réaction négative.

Essayés au Wassermann, le sérum des premiers était encore positif, celui du dernier négatif.

L'état général n'a pas été modifié d'une façon appréciable.

Ce même composé m'a donné aussi des résultats intéressants à noter dans l'orchite tuberculeuse des lapins.

Exp. I. — En injectant dans les testicules des lapins une émulsion très épaisse (environ 1 milligramme) d'une culture de tuberculose peu virulente (culture *Test*, de l'Institut Pasteur), on voit apparaître, après 7 à 10 jours, des nodules qui deviennent de plus en plus volumineux, de sorte que bientôt l'animal ne peut plus rentrer ses testicules.

Chez un de ces lapins (n° 56, poids 2 kilogr. 890), on commence le traitement 7 jours après l'inoculation et il reçoit d'abord tous les deux jours dans les veines des oreilles 3 injections de 0,25 milligramme d'éosinate d'argent dans 10 cent. cubes d'eau physiologique et, 20 jours après, 5 autres injections de 0,25 à 0,5 milligramme tous les 8 à 10 jours.

Au début, jusqu'au 20^e jour après l'inoculation, les testicules augmentaient de volume. A partir du 23^e jour, on constate une diminution sensible qui s'accroît après chaque injection, de sorte que deux mois après l'inoculation, l'animal peut de nouveau rentrer ses testicules et on ne sent au toucher que quelques très petits nodules dans un épiddyme. L'autre testicule ainsi que l'épididyme semblent revenus à l'état normal.

On cesse alors les injections, et deux mois plus tard on voit l'orchite réapparaître de nouveau sous la même forme.

Cinq mois et demi après l'inoculation, le lapin pèse 3 kilogr. 270, il y a

donc augmentation de poids de près de 500 grammes, il est alors sacrifié et on ne trouve de lésions tuberculeuses nulle part ailleurs que dans un testicule. La tuberculose ne s'est pas généralisée.

Le lapin n° 57 (2 kilogr. 570) a été traité de la même façon, mais le traitement n'a commencé qu'un mois après l'inoculation, et il n'a reçu que 5 injections en tout. Il est mort deux mois après, de la pasteurellose. Trois jours avant la mort, il pesait 2 kilogr. 820. A l'autopsie, on n'a trouvé que quelques tubercules dans les poumons et dans les testicules, rien dans les autres organes.

Le témoin n° 54 (2 kilogr. 920) est mort en 4 mois avec des testicules énormes et tuberculose généralisée après avoir perdu plus de la moitié de son poids (1 kilogr. 760). Un autre témoin (le n° 55) (2 kilogr. 860) est mort en 6 semaines. Testicules très volumineux caséifiés, tuberculose généralisée.

Dans tous ces cas, les veines injectées ont encore été gravement atteintes, mais les résultats obtenus étaient assez encourageants pour justifier la recherche d'un composé dans lequel l'argent serait encore mieux dissimulé que dans sa combinaison avec l'éosine. Ces recherches, dans lesquelles j'ai mis à profit les entretiens que j'ai eus sur ce sujet avec M. Louis Fournier et ses collaborateurs MM. Dalimier, Guenot, Lancereaux et Lesage, devaient tout naturellement conduire à l'idée d'associer l'argent à des composés qui ont déjà fait leurs preuves comme agents thérapeutiques puissants.

J'ai pensé tout d'abord à la série des arsenicaux, le cacodylate de soude, l'atoxyl et enfin le dioxydiaminoarsénobenzol mis en valeur par les travaux d'Armand Gautier, Laveran, Thomas, Kopke, Louis Martin, R. Koch, Salmon et dans ces derniers temps surtout par Ehrlich et ses nombreux élèves et collaborateurs.

Il serait sans intérêt de décrire ici les détails de toutes ces combinaisons et des essais que j'ai été amené à faire, parce que les dernières de cette série, les combinaisons des sels d'argent et de dioxydiaminoarsénobenzol, m'ont donné des résultats supérieurs à toutes les autres.

Je me bornerai donc à signaler qu'en ajoutant une solution d'éosinate d'argent à une solution d'atoxyl, on obtient un produit qui reste soluble dans l'eau et dans lequel par conséquent l'argent et l'arsenic sont dissimulés, tandis que l'atoxylate d'argent est un simple sel insoluble dans l'eau et qu'on ne peut employer qu'en émulsion huileuse, et je passerai de suite à la

description des composés de sels d'argent et de dioxydiaminoarsénobenzol.

COMPOSÉS DE CHLORURE, BROMURE OU IODURE D'ARGENT
ET DE DIOXYDIAMINOARSÉNOBENZOL.

Pour combiner l'argent au dioxydiaminoarsénobenzol, le plus simple était de mélanger une solution de nitrate d'argent avec une solution aqueuse de chlorhydrate de dioxydiaminoarsénobenzol.

En opérant ainsi, j'ai obtenu une liqueur limpide plus ou moins foncée, suivant la quantité d'argent introduite, dans laquelle l'argent était évidemment dissimulé.

En traitant ce liquide par le chlorure de sodium ou un autre électrolyte, on obtient un précipité floconneux et, en dosant l'acidité du liquide surnageant, on constate que la réaction n'a subi aucune modification appréciable.

Quand on traite ce composé par l'acide sulfurique, on obtient un précipité jaune clair très abondant et le liquide qui surnage ne contient que des traces d'arsenic et d'argent.

Ces faits tendent à prouver que l'argent et le chlore ont été fixés par le dioxydiaminoarsénobenzol.

Cette fixation du chlore, qui par lui-même ne joue aucun rôle dans la thérapeutique, m'a alors donné l'idée de le remplacer par le brome ou par l'iode, qui possèdent l'un et l'autre des propriétés spécifiques très prononcées, et j'ai reconnu qu'en mélangeant des solutions de bromure et d'iodure d'argent dans le cyanure de potassium avec une solution de dioxydiaminoarsénobenzol, on obtenait des composés analogues aux précédents dans lesquels, par conséquent, l'argent, le brome et l'iode étaient fixés et dissimulés.

La préparation de ces produits a été décrite dans les *Comptes rendus de l'Académie des Sciences* du 19 janvier 1914.

L'analyse des produits obtenus à l'état sec a donné :

Produit bromé : Ag, 10,06; Br, 8,14; As, 26,99; $\text{SO}^{\bullet}\text{H}^2$, 46,10 p. 100.

Produit iodé : Ag, 10,50; I, 11,47; As, 26,80; $\text{SO}^{\bullet}\text{H}^2$, 45,97 p. 100.

Dans toutes ces préparations, j'avais été très utilement aidé

par M. Ch. Digaut, ingénieur-chimiste, attaché à mon laboratoire.

J'ai cherché avant tout à en étudier et déterminer les propriétés antiseptiques et thérapeutiques, laissant pour plus tard l'étude de la nature chimique de ses composés, qui paraît être très particulière.

Cette étude a été entreprise dans mon laboratoire par le Dr Kozniewski, privat-docent de l'Université de Cracovie.

Mes premières expériences avec les composés arséno-argentiques étaient déjà faites quand j'ai eu connaissance de la conférence faite par M. Ehrlich au Congrès de médecine de Londres (8 août 1913). M. Ehrlich dit dans cette conférence, entre autres choses, ce qui suit :

« Les indigènes de quelques pays sauvages avaient l'habitude, pour mieux tuer leurs ennemis, d'enduire les fers de leurs flèches, non pas avec un seul, mais avec deux ou trois poisons différents, et il nous a semblé utile d'imiter ce procédé dans la lutte avec les parasites et d'empoisonner nos flèches synthétiques non pas une seule, mais deux fois. En collaboration avec le Dr Karrer, j'ai réussi à fixer encore des métaux sur les arsenicaux réduits (par exemple le salvarsan) et à obtenir ainsi des médicaments qui se sont montrés dans les expériences de laboratoire d'une valeur thérapeutique plus élevée. »

Il est donc certain, et je le reconnais volontiers, qu'Ehrlich avait eu l'idée de ces combinaisons bien avant moi et j'en ai eu la preuve quand j'ai appris (en novembre 1913) par mon collègue M. Fourneau, auquel je dois quelques conseils très utiles pour mes préparations, qu'Ehrlich a fait breveter un composé de dioxydiaminoarsénobenzol et d'azotate d'argent.

Ce brevet avait été déposé déjà en 1912 et affiché à la fin de septembre 1913.

Deux mois après la publication de ma première note (1) sur ce sujet, M. Ehrlich a eu l'amabilité de m'écrire que le Dr Karrer, qui s'est plus spécialement occupé des combinaisons des arsenicaux avec les métaux, a pu démontrer que dans le dioxydiaminoarsénobenzol, les métaux se fixaient sur l'arsenic, et dans une deuxième lettre datée du 3 janvier 1914, qu'il a fait bre-

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*. Séance du 20 octobre 1913.

veter également les combinaisons de ses arsenicaux avec l'or, le platine, l'iridium, le cuivre, etc.

Le grand savant m'annonce en même temps que M^{lle} Leupold a fait des essais de son composé cuprique dans une trypanosomiase (race de Morgenroth) et qu'elle a pu guérir des souris de 20 grammes par des doses de 0,02 milligramme et en injectant simultanément 1/400 à 1/600 de trypanobleu, par les doses 0,007 à 0,008 milligramme par kilogramme.

Entre temps (en décembre 1913), j'ai reçu aussi « une communication préliminaire » de M. F. van den Branden, qui a traité avec succès à Léopoldville quelques cas de maladie du sommeil par le même composé cuprique, mais M. van den Branden dit en même temps que ce composé s'est montré quelquefois instable au moment de sa préparation et qu'une injection de 2 décigrammes a causé la mort d'un malade de 45 kilogrammes sur 35 cas traités. Le cas de mort était dû à l'intoxication arsenicale.

Pour résumer l'histoire de cette question, je puis donc dire que — m'inspirant des anciens travaux sur les propriétés physiologiques, thérapeutiques et surtout antiseptiques des sels d'argent et des travaux plus récents de Laveran, Mesnil et Nicolle, Ehrlich, Morgenroth, etc., sur les effets de l'association de différents médicaments dans le traitement des trypanosomiasés, et mettant largement à profit les travaux d'Ehrlich et de ses élèves sur la chimiothérapie moderne — j'ai eu l'idée des mêmes combinaisons que le grand savant allemand indépendamment de lui, et tout en suivant une voie différente de celle qu'il a suivie lui-même.

En outre, habitué à expérimenter avec des produits biologiques dont la composition nous est complètement inconnue, mais dont nous constatons très bien les effets, je ne me préoccupais pas tout d'abord de connaître la nature chimique exacte de mes composés. Je cherchais avant tout à établir leur valeur au point de vue thérapeutique, et j'ai pu publier les premiers résultats de mes recherches avant toute autre publication scientifique de ce genre.

Les essais que j'ai pu faire avec les composés des arsenicaux d'Ehrlich et d'autres métaux, tels que le mercure, l'or et le

platine, me permettent de supposer, ainsi que je l'ai déjà indiqué ailleurs (1), que ce sont les composés arséno-argentiques qui donnent les produits les plus stables et les plus actifs par rapport à leur faible toxicité.

Je dois ajouter que les composés arséno-argentiques peuvent encore être associés, de même que le composé cuprique d'Ehrlich, au trypanobleu, trypanorouge (2) ou tryparosan et que cette association augmente beaucoup leur activité thérapeutique dans certaines trypanosomiasés.

ESSAIS THÉRAPEUTIQUES

J'ai essayé les composés arséno-argentiques dans les maladies suivantes :

1° TRYPANOSOMIASES et notamment le *Surra* (du laboratoire de Mesnil), le *Tr. rhodensiense* et *dimorphosn* (du laboratoire de Laveran);

2° SPIRILLOSES, *Spir. des poules* (du laboratoire de Marchoux);
Spir. de la fièvre récurrente (du laboratoire de Mesnil);
Syphilis expérimentale des lapins (du laboratoire de Levaditi et du laboratoire de L. Fournier, de l'hôpital Cochin);
Syphilis de l'homme (service de L. Fournier, à l'hôpital Cochin);

Pour éviter les longues dénominations, j'appellerai :

A C A, le dioxydiaminoarsénobenzol chloroargent-argentique;

A B A, le dioxydiaminoarsénobenzol bromo-argentique;

A I A, le dioxydiaminoarsénobenzol iodo-argentique.

La proportion de chlorure, de bromure ou d'iodure d'argent combiné sera désignée par un chiffre. Ainsi, par exemple, la combinaison d'une molécule de chlorure d'argent pour trois

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*. Séance du 19 janvier 1914.

(2) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*. Séance du 20 octobre 1913.

molécules de dioxydiaminoarsénobenzol sera désignée par ACA².

Le dioxydiaminoarsénobenzol sera désigné par : *ddab*.

La toxicité de nos trois produits est à peu près la même.

Les lapins de 2 kil. 500 à 3 kilogrammes supportent sans réaction immédiate et sans lésions consécutives apparentes une injection dans la veine de l'oreille de 20 centigrammes dissous dans 20 cent. cubes d'eau.

Les cobayes de 350 à 500 grammes supportent bien une injection de 3 centigrammes dans 3 cent. cubes d'eau, dans les muscles des cuisses.

Les souris de 16 à 22 grammes supportent une injection de 2,5 milligrammes dans 1 cent. cube sous la peau.

Une injection de 11 centigrammes par kilogramme a tué un lapin sur trois.

Une injection de 10 centigrammes par kilogramme a tué deux cobayes sur quatre.

Une injection de 3 milligrammes a tué une souris de 20 grammes sur trois.

On peut donc admettre les données suivantes :

Dose toxique, 10 centigrammes par kilogramme;

Dose tolérée, 7 à 8 centigrammes par kilogramme.

TRYPANOSOMIASES.

Pour essayer l'action de mes différents produits et comparer leur action à celle de l'atoxyl et du dioxydiaminoarsénobenzol, je me suis servi principalement de souris infectées de Surra.

Inoculées par piqûres sous la peau, les souris non traitées succombaient généralement quatre à cinq jours après.

Exp. 1. — (*Surra*). Toutes les souris sont injectées une seule fois, le troisième jour après l'infection, quand les trypanosomes sont déjà nombreux.

A. — ATOXYL.

doses.	Souris.	résultats.
2/10 mgr.	1	+ 5 jours.
	2	+ —
4/10 mgr.	1	+ —
	2	+ —
5/10 mgr.	1	+ —
1 mgr.	1	R. après 10 j.
	2	R. après 9 —
2 mgr.	1	R. après 11 —
	2	R. après 12 —

B. — ddab.

doses.	Souris.	résultats.
2/100 mgr.	1	+ 4 jours.
3/100 mgr.	1	+ 7 —
4/100 mgr.	1	+ 4 —
	2	+ 5 —
	3	+ 6 —
5/100 mgr.	1	+ 5 —
7/100 mgr.	1	+ 5 —
1/10 mgr.	1	+ 5 —
	2	+ 7 —
	3	R. après 13 j.

 C. — ACA⁴.

doses.	Souris.	résultats.
1/100 mgr.	1	+ 6 jours.
2/100 mgr.	1	+ 6 —
	2	+ 5 —
	3	+ 5 —
	4	+ 6 —
	5	+ 5 —
3/100 mgr.	1	+ 7 —
	2	+ 8 —
4/100 mgr.	1	R. après 8 j.
	2	R. après 7 —
	3	R. après 8 —
	4	R. après 9 —
	5	R. après 13 —
	6	R. après 12 —

 C. — ACA⁴ (suite).

doses.	Souris.	résultats.
4/100 mgr.	7	R. après 13 jours.
	8	R. après 22 jours.
	9	Guérie.
	10	—
	11	—
6/100 mgr.	1	R. après 12 jours.
	2	R. après 13 —
	3	R. après 15 —
	4	Guérie.
	5	—
	6	—
7/100 mgr.	1	—
	2	—
	3	—
8/100 mgr.	1	R. après 30 jours.
1/10 mgr.	1	—
	2	—
	3	—

 D. — ABA⁹.

doses.	Souris.	résultats.
4/100 mgr.	1	R. après 13 jours.
	2	R. après 13 —
	3	Guérie.
	4	—
	5	—
	6	—
	7	—
	8	—
	9	—
6/100 mgr.	1	R. après 9 jours.
	2	Guérie.
	3	—
	4	—
	5	—
	6	—

 E. — AIA⁴.

doses.	Souris.	résultats.
4/100 mgr.	1	R. après 6 jours.
	2	R. après 7 —
8/100 mgr.	1	R. après 16 —
	2	R. après 17 —

Le signe + indique la mort de l'animal, la lettre R la récidive.

Il résulte de cette expérience que, pour le Surra, le produit bromé est sensiblement plus actif que les deux autres. On peut évaluer à 7/100 de milligramme la dose qui guérira les souris

par une seule injection sous la peau, faite 60 heures environ après l'inoculation. La dose tolérée étant de 2,5 milligrammes, le rapport entre cette dose et la dose qui guérit serait de 36/1. Ce produit est au moins 3 fois plus actif que le *ddab* et 35 fois plus actif que l'atoxyl. C'est donc surtout avec le produit ABA³ que j'ai continué les expériences, qui avaient pour but d'établir :

1° *Les effets d'un traitement commencé plus ou moins tard après l'infection;*

2° *Les effets d'un traitement consistant en injections répétées de petites doses qui, injectées une seule fois, n'empêchent pas les récidives;*

3° *Le traitement des récidives.*

EXP. 3. — Deux souris sont injectées le lendemain de l'infection avec 1/100 de milligramme de ABA³ et ces mêmes doses sont injectées encore deux fois les deux jours suivants. Chez les 2 souris traitées, il n'y avait pas encore de trypanosomes dans le sang au moment de la 1^{re} injection et ces deux souris ne sont jamais devenues malades. Le témoin est mort le cinquième jour.

EXP. 4. — Six souris reçoivent 4 injections de 1/100 de milligramme du même produit pendant quatre jours de suite, mais la première injection a été faite quarante-huit heures après l'infection. Il y avait au moment de la 1^{re} injection des trypanosomes peu nombreux dans le sang. De ces six souris, deux ont des rechutes après treize et vingt-deux jours; les quatre autres sont guéries.

EXP. 5. — Deux souris reçoivent quarante-huit heures après l'infection une 1^{re} injection de 2/100 de milligramme et, de deux jours en deux jours, deux autres injections de 2/100 de milligramme.

Les deux souris n'ont pas de rechutes.

EXP. 6. — Deux souris sont traitées de la même façon, mais ne reçoivent que 2 injections de 2/100 de milligramme. Guérison.

Il semble donc résulter des expériences 3, 4, 5 et 6 :

1° Que l'on peut obtenir des guérisons d'autant plus sûrement et avec des doses d'autant plus faibles que le traitement est commencé plus tôt après l'infection, ce qui confirme les résultats obtenus déjà avec d'autres médicaments;

2° Que des injections à petites doses souvent répétées donnent des résultats meilleurs qu'une injection de la même quantité du médicament en une seule fois.

EXP. 7. — On commence le traitement le quatrième jour après l'infection, au moment où les trypanosomes sont très nombreux dans le sang.

Le traitement et les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau suivant :

JOURS	S. 1	S. 2	S. 3	S. 4	S. 5	S. 6	S. 7
1	0	0	0	0	0	0	0
2
3
4
1 ^{re} injection de 5/100 mgr. ABA ³ .							
5	+	+
2 ^e injection de 5/100 mgr.							
6	+
3 ^e injection de 5/100 mgr.							
7	0	0	0	0
8	0	0	0	0
9	0	0	0	0
10	0	0	0	0
11	0	.		
4 ^e inj. 6/100 mgr.							
12	0	0
13	0	0
14	0	0
5 ^e inj. 6/100 mgr.							
15	0	0
6 ^e inj. 6/100 mgr.							
16	0	0
7 ^e inj. 6/100 mgr.							
17	+	+	0	0
18	0	0
19	0	0

Le nombre plus ou moins grand de points (. . .) indiquera le nombre plus ou moins grand de trypanosomes dans le sang.

L'expérience 7 montre tout d'abord qu'en commençant le traitement au moment où les trypanosomes sont très nombreux on n'obtient pas de guérison avec des doses cinq à six fois plus fortes que dans l'expérience 3 (1^{re} injection vingt heures après l'infection).

Ce fait donne une indication très importante pour le traitement des rechutes.

Les souris 4 et 5 de l'expérience 7 n'ont pas pu être sauvées malgré trois injections faites *après* la réapparition des trypanosomes dans le sang, tandis que deux injections de la même importance, mais faites *avant* la réapparition des trypanosomes, ont pu empêcher la rechute et guérir les souris définitivement.

On observe donc dans le traitement des rechutes les mêmes faits que dans le traitement des infections primaires, — à cette différence près que, dans les rechutes on a affaire à des parasites déjà plus ou moins immunisés et contre l'action du médicament et contre celle de l'organisme.

On sait en effet que les trypanosomes, ainsi que d'autres microbes (1), peuvent être immunisés contre l'action des antiseptiques et contre celle des sérums microbicides et que dans un organisme infecté et traité par des doses incomplètement stérilisantes, les trypanosomes doivent acquérir cette immunité.

Dans les maladies à rechutes, dans lesquelles on ne peut pas avoir la certitude absolue d'obtenir une guérison définitive par une seule injection, il serait donc tout indiqué de faire plusieurs injections à des intervalles de temps assez rapprochés.

Si en effet, la 1^{re} injection est déjà assez active pour faire disparaître les parasites du sang circulant pendant quelques jours, la 2^e injection, faite avant la réapparition des parasites, mettra le malade dans le cas de notre expérience 3; une 3^e injection aura encore plus d'effet, et si les quantités de médicament employées ne dépassent pas les doses excitantes, c'est-à-dire curatives pour l'organisme, on mettra ce dernier dans les meilleures conditions de défense.

Il est impossible, en effet, d'assimiler complètement la stérilisation par un antiseptique d'une culture dans un tube à la destruction par ce même antiseptique des microbes dans un organisme malade. Dans ce dernier cas, le problème à résoudre est infiniment plus compliqué.

(1) J. DANYSZ, Immunisation de la bactériémie charbonneuse contre le sérum de rat et les arsenicaux. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XIV, p. 641.

On sait que les sérums antimicrobiens, par exemple le sérum antipesteux ou antityphique, qui sont très peu ou pas du tout microbicides *in vitro*, peuvent guérir les souris infectées par la peste ou la péritonite typhique des cobayes. Dans ce cas, ainsi que cela a été établi par l'œuvre de Metchnikoff et les travaux de ses nombreux collaborateurs et élèves, la collaboration de l'organisme est évidente et même on peut dire que son rôle dans la destruction des microbes est prépondérant. Le rôle du médicament est indirect, sinon secondaire, parce qu'il rend l'organisme capable de détruire les parasites sans pouvoir les détruire lui-même, — et la quantité du sérum injecté peut (dans certaines limites, bien entendu) dépasser sans inconvénient la dose nécessaire à la guérison, parce que les sérums spécifiques sont, selon l'expression d'Ehrlich, exclusivement parasitotropes.

En ce qui concerne les médicaments chimiques, on n'en connaît pas encore qui auraient cette affinité exclusive pour les parasites. Ces produits ne sont jamais exclusivement spécifiques, ils se fixent sur certains tissus, sur certains organes et produisent, à certaines doses, des troubles plus ou moins apparents et plus ou moins graves. Ils ont, par contre, un avantage que ne possèdent pas les sérums, c'est celui d'augmenter, à certaines autres doses, les moyens de défense de l'organisme en excitant l'activité des phagocytes ou de certaines glandes.

Cette action nocive ou excitante dépend de la dose injectée, de sorte que l'effet d'un antiseptique sur un organisme malade peut être figuré par une courbe présentant un optimum d'action curative qui correspond à une dose déterminée. Au-dessous de cette dose, la dilution de l'antiseptique sera trop grande pour atteindre utilement les microbes; au-dessus, l'antiseptique diminuera les moyens de défense naturels de l'organisme et, dans les deux cas, le résultat sera le même.

Dans ses leçons sur la diphtérie, M. E. Roux nous a fait voir les dangers qui peuvent résulter de l'emploi des antiseptiques trop concentrés ou trop irritants pour la gorge des petits malades. Ces badigeonnages ne pouvaient jamais détruire tous les microbes et ceux qui restaient trouvaient un excellent milieu de culture sur les muqueuses meurtries et mises à vif.

Ces mêmes antiseptiques, employés à doses non irritantes, produisaient des effets bien meilleurs.

C'est dans cet enseignement que j'ai puisé les idées pour l'étude de l'action des antiseptiques et j'ai constaté que les faits signalés par Roux pour les infections localisées se retrouvent aussi dans les septicémies.

Ainsi, quand on infecte des souris par la bouche avec le *bacille typhi murium*, quand on leur injecte le lendemain de l'infection 1/10, 1/2 et 1 milligramme de ABA² et quand on fait l'examen bactériologique de leur sang les jours qui suivent, on constate que ce sont les souris qui ont reçu les plus fortes doses qui sont envahies par les microbes le plus tôt et que ce sont elles qui meurent les premières et avant les témoins.

On peut donc affirmer que les antiseptiques ne sont pas capables de détruire à eux seuls tous les microbes d'un organisme malade, que l'intervention de l'organisme est indispensable et que cette intervention sera d'autant plus utile que la quantité du médicament employé sera plus éloignée de la dose toxique.

L'expérience 7 nous donne encore une indication intéressante. On constate que les souris 4 et 5 ont vécu deux fois plus longtemps (six jours), après l'apparition des trypanosomes et malgré la présence de très nombreux trypanosomes dans leur sang, que les souris 1 et 2 (trois jours) ce qui prouverait que si les trypanosomes peuvent s'immuniser contre l'action destructive de l'organisme et des antiseptiques, l'organisme peut à son tour s'habituer aux trypanosomes. Il s'établirait dans ce cas une sorte de symbiose qui pourrait conduire, à la longue, à la création de ces races non pathogènes que l'on rencontre chez beaucoup de mammifères et chez les vertébrés inférieurs ; ces trypanosomes non pathogènes sont généralement beaucoup plus résistants (1) à l'action des antiseptiques probablement parce qu'ils sont naturellement immunisés contre l'action destructive des phagocytes et des humeurs de l'organisme.

L'exemple que je viens de citer n'est peut-être pas assez convaincant parce que, chez les souris, la maladie évolue trop vite, mais j'ai un cobaye qui a été infecté en même temps qu'une série d'autres et qui reçoit tous les quinze ou vingt

(1) LAVERAN et MESNIL, Trypanosomes et trypanosomiasés, p. 302.

jours une petite dose (1 à 4 milligrammes) d'un de mes produits. Ce cobaye, traité ainsi depuis six mois, a toujours des trypanosomes dans le sang et, malgré cela, son poids augmente régulièrement et il semble très bien portant. Les témoins sont morts en quarante-cinq et quatre-vingt-dix jours et, d'après Laveran et Mesnil (1), sur 199 cobayes infestés par le Tr. du surra, la survie la plus longue était de cent quatre jours.

LES TRYPANOSOMES RHODESIENSE, GAMBIENSE ET DIMORPHON.

Quelques expériences comparatives m'ont permis de constater que le produit ABA³ est à peu près aussi actif pour le trypanosome *Rhodesiense* (du laboratoire de Laveran) et le trypanosome *Gambiense* (du laboratoire de Mesnil) que pour le Surra (du laboratoire de Mesnil).

J'ai pu guérir des souris infectées avec le trypanosome *Rhodesiense* par une seule injection de 1/10 de milligramme de ABA³ seul et de 4/100 de milligramme quand on combine le ABA³ avec du trypanorouge.

Par contre, des doses de 1 et même de 2 milligrammes de ABA³ ne font que retarder de quelques jours la mort des souris infectées par le Tr. Dimorphon.

J'ai réussi pourtant à guérir quelques souris infectées avec le Tr. Dimorphon par un mélange de 3 milligrammes ACA³ et avec 2 milligrammes de ABA additionné de 1 milligramme de Trypanorouge et une autre par un mélange de 4 milligramme de ABA³ et de 1 milligramme de Trypanosan.

Spirilloses.

Dans la spirillose des poules (du laboratoire de Marchoux), le produit ACA⁴ s'est montré beaucoup plus actif que le 606.

Exp. 8. — Trois poules sont injectées le lendemain de l'infection dans le muscle pectoral. Au moment de l'injection les spirilles sont nombreux.

1 ^{re} injection.	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Poule n° 1, 3 mgr. } ddab. \\ \text{Poule n° 2, 3 mgr. } ACA^3. \\ \text{Poule n° 3, 3 mgr. 71 (2).} \end{array} \right\}$	$\left. \begin{array}{l} \text{le lendemain les spirilles} \\ \text{sont encore nombreux.} \end{array} \right\}$
----------------------------	--	--

(1) *Trypanosomes et trypanosomiases*, p. 364.

(2) Composé de dioxydiaminoarsénobenzol et de cyanure d'or et de potassium.

2 ^e injection.	{	Poule n° 1, 5 mgr. <i>ddab</i> .	} Le lendemain +	
		Poule n° 2, 3 mgr. ACA ³ .		Disparition des spirilles
		Poule n° 3, » mgr. 71 . . }		

Cette expérience a été répétée avec cette différence que les 3 poules avaient été injectées une seule fois avec 5 milligrammes des mêmes produits.

Le résultat avait été le même que dans le cas précédent.

CHANCRE SYPHILITIQUE DES LAPINS.

Deux lapins (du laboratoire de M. Levaditi) présentant des chancres syphilitiques au même degré de développement et riches en spirochètes ont reçu :

Le premier (poids 2 kilogr. 700) : 15 centigrammes d'un composé de *ddab* et d'éosinate d'argent. Les trypanosomes ont disparu en vingt-quatre heures :

Le deuxième (poids : 2 kilogr. 800), 15 centigrammes de dioxydiaminoarsénobenzol seul. Après vingt-quatre heures, il y avait encore quelques tréponèmes vivants; après quarante-huit heures, il n'y en avait plus.

Les deux lapins ont guéri à peu près en même temps.

J'ai reconnu plus tard que le composé à l'éosinate d'argent était moins actif que le composé bromé. Ce dernier composé essayé à la dose de 10 milligrammes sur un lapin de 2 kilogr. 500 infecté par M. Lancereaux au laboratoire de M. Louis Fournier et présentant un beau chancre du scrotum très riche en spirochètes, a fait disparaître ces derniers en quinze heures. Le chancre a été guéri en douze jours.

SYPHILIS DE L'HOMME.

M. Fournier a donc voulu essayer ce produit (*ABA*³) dans la syphilis de l'homme, et voici quelques résultats de ces traitements tels qu'ils m'ont été communiqués par M. Lesage, interne du service :

Malade 2245. — Syphilis d'un an. Plaques muqueuses hypertrophiques suintantes de l'anus. Wassermann positif.

A reçu, du 11 au 18 décembre, 4 injections de 15, 20, 15, 25 centigrammes. En tout : 75 centigrammes.

Le 18 décembre, plaques muqueuses aplaties, mais encore légèrement saillantes.

Le 20 décembre. Wassermann positif.

Malade 2249. — Chancre phagédénique datant de trois semaines. Wassermann positif.

Injectons du 11 au 18 décembre, 15, 20, 15, 25 centigrammes. En tout : 75 centigrammes de ABA.

Le 20 décembre, chancre presque cicatrisé, avec encore une petite ulcération dans le fond.

Le 28 décembre, chancre complètement cicatrisé.

Le 13 janvier, pas d'accidents secondaires. Wassermann positif.

Malade 2283. — Chancre diphtéroïde du méat datant de quatre semaines, grosse induration, adénite bi-inguinale marquée. Wassermann positif.

A reçu, du 25 décembre au 5 janvier, 20, 20, 15, 20 centigrammes. En tout : 75 centigrammes de ABA.

Le 3 janvier, chancre presque guéri.

Le 8 janvier, complètement guéri, adénite bien diminuée.

Le 26 janvier, pas d'accidents secondaires. Wassermann négatif.

Malade 2285. — Chancre de la face interne du prépuce datant de quinze jours. Wassermann positif.

A reçu, du 25 décembre au 3 janvier, 20, 15, 20 centigrammes. En tout : 55 centigrammes de ABA.

Le 3 janvier, chancre complètement cicatrisé.

Le 18 janvier. Wassermann positif.

Malade 2289. — Syphilis de quatre mois. Plaques muqueuses du scrotum et de l'anus. Roséole érythémateuse du tronc. Angine. Plaques hypertrophiques de la langue.

A reçu, du 27 décembre au 3 janvier, 20, 15, 20 centigrammes. En tout : 55 centigrammes de ABA.

Le 3 janvier, amélioration très nette de toutes les lésions.

Le 10 janvier, le malade va très bien, toutes les lésions ont disparu.

Malade 1882. — 1^{er} août 1913. Chancre syphilitique du prépuce cicatrisé depuis trois mois, adénite, roséole, plaques muqueuses. Wassermann positif.

Reçoit du 4 au 13 août trois injections de 50 centigrammes de 606.

Le 14 août. Amélioration sensible.

Le 15 septembre, à la place du chancre, il y a une ulcération chancriforme et ulcération au niveau du méat.

Le 25 septembre, les bords du chancre sont plus nets qu'au début. Injection de 50 centigrammes de 606. Wassermann légèrement atténué.

Le 24 octobre, le chancre n'est pas guéri. Wassermann positif.

Le 5 novembre, chancre incomplètement cicatrisé. Injection de 50 centigrammes de 606.

Le 4 janvier 1914, l'ulcération du limbe persiste, ne s'est jamais cicatrisé complètement. Wassermann positif.

Le 8 janvier, en plus de l'ulcération du limbe, il existe trois autres ulcérations ressemblant tout à fait à des accidents primitifs. Syphilis chancriforme.

Le 10 janvier, injection de 18 centigrammes de produit bromo-arséno-argentique (ABA³).

Le 13 janvier, amélioration très nette de toutes les lésions.

Du 13 au 20 janvier, trois injections de 0,20 centigramme de ABA³.

Le 20 janvier, toutes les lésions sont cicatrisées.

On a traité de cette façon jusqu'à présent (1^{er} mars 1914) 80 cas, et dans tous ces cas on a constaté des résultats analogues. Le cas 1882 est plus particulièrement intéressant, parce que ses lésions ont résisté à un traitement prolongé par l'arsénobenzol, et ont été sensiblement améliorées dès la première injection de 0,18 centigramme du produit ABA³.

Ainsi, avec des doses de 0,55 à 0,75 centigramme de ABA³ en 3 ou 4 injections répétées tous les deux ou trois jours, on obtient des résultats au moins aussi bons et souvent meilleurs et plus rapides qu'avec 1 gr. 50 à 2 grammes de 606.

Les injections de ce produit sont généralement très bien tolérées. Elle ne sont suivies ni de vomissements, ni même de nausées.

Quelquefois la première injection est suivie dans les douze à vingt-quatre heures d'une légère élévation de température, qui ne se manifeste plus aux injections suivantes. Ce serait donc une réaction spécifique, c'est-à-dire une conséquence naturelle de l'action du produit sur les spirochètes.

En résumé, on peut donc affirmer que l'addition de l'argent au dioxydiaminoarsénobenzol, surtout sous la forme de bromure et d'iodure d'argent, ce qui permet de fixer également le brome et l'iode, augmente considérablement les propriétés antiseptiques et curatives de chacune de ces substances prises séparément, sans en augmenter les propriétés toxiques.

Les essais de traitement de certaines septicémies me donnent à penser que les produits chimiques curatifs n'agissent pas exclusivement comme antiseptiques dans les organismes infectés; que, dans ce cas, comme dans le cas des sérums antimicrobiens, l'intervention de l'organisme, et en particulier des phagocytes, joue le rôle le plus important dans la destruction des microbes.

INFLUENCE DES DIFFÉRENTES ESPÈCES DE SACCHAROMYCES SUR MILIEUX ARTIFICIELS ET NATURELS

par JULES VENTRE.

(DEUXIÈME PARTIE)

EXAMEN DES RÉSULTATS ANALYTIQUES.

Les essais dont il vient d'être question ont été contrôlés deux fois et les résultats inscrits dans les tableaux représentent la moyenne des deux dosages.

Les méthodes d'analyse auxquelles j'ai eu recours sont les méthodes officielles, c'est-à-dire : *pour l'alcool*, la détermination après distillation d'une quantité de liquide égale à environ 200 centimètres cubes et emploi de l'alcoomètre légal. De cette manière, je pouvais être sûr du dixième de degré.

Pour *l'acidité totale*, j'ai adopté, après contrôle, la *méthode volumétrique gazeuse* (1) ; cette méthode me permettait de me rendre compte en même temps de la quantité de gaz carbonique que pouvaient tenir en dissolution les vins.

Pour *l'acidité volatile*, j'ai employé uniquement la *méthode de Duclaux* en ayant soin de conduire la distillation d'une manière régulière et en évitant, autant que possible, les coups de feu.

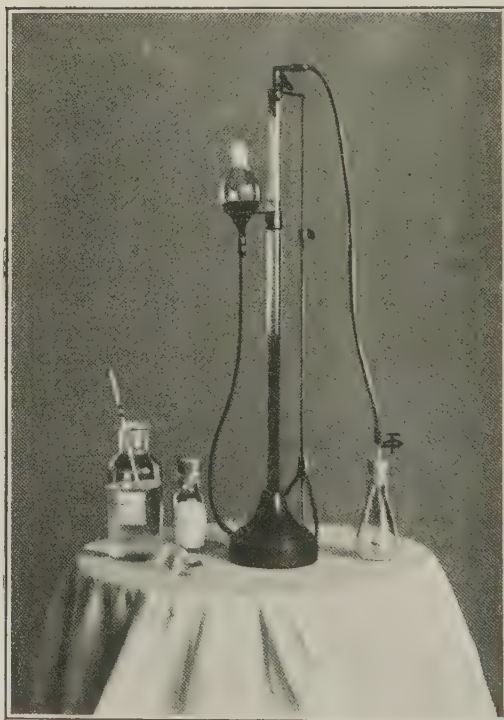
La détermination de *l'extrait sec* a eu lieu par la méthode à 100 degrés et par la méthode du vide. De manière à éviter toutes causes d'erreur, j'ai, dans le cas de la *méthode à 100 de-*

(1) Cette méthode qui, à l'heure actuelle, est employée d'une manière presque exclusive au laboratoire de technologie à l'Ecole d'Agriculture de Montpellier, est basée sur les différences proportionnelles des volumes de gaz carbonique dégagé par deux acidités dont l'une est connue, agissant sur un excès de bicarbonate alcalin. L'opération consiste donc à faire d'abord

grés, opéré par série et en intervertissant, au cours de l'évaporation, l'ordre des capsules ; j'avais ainsi la certitude que les mêmes causes agissaient uniformément sur toutes les capsules.

La *quantité de cendres totales* a été obtenue à la suite de deux opérations successives, c'est-à-dire que la matière organique de 50 centimètres cubes de vin, sitôt carbonisée au

un tarage pour lequel on emploie la solution décimale d'acide sulfurique, puis à répéter ensuite la même opération avec le liquide dont on doit déterminer l'acidité. La différence entre les deux volumes est multipliée par un



coefficient, ordinairement constant pour les acidités que l'on a le plus souvent à mesurer, et le produit est ajouté ou retranché du chiffre d'acidité connue, selon que l'acidité inconnue est supérieure ou inférieure à celle du liquide de tarage. L'appareil dont on se sert est un tube de Scheibler pour le dosage de l'acide carbonique dans les calcaires, simplifié, que Bernard avait appliqué au dosage calcimétrique des terres et étendu à l'acidimétrie des vins (fig.). Pratiquement, on fait réagir 20 cent. cubes de liqueur acide sur 5 cent. cubes de bicarbonate de sodium à 7 p. 100 ou de potassium à 8,5 p. 100. Les résultats concordent parfaitement avec ceux obtenus par le dosage alcalimétrique. Le coefficient est sensiblement constant pour des acidités comprises entre 5 et 10 grammes

d'acide sulfurique par litre et correspond à 0,115. Dans les conditions les plus générales de la pratique (15-20 degrés centigrades), on n'a pas à faire de corrections de température.

Exemple : Soit V le nombre de cent. cubes de gaz carbonique obtenu avec la liqueur sulfurique décimale (titre = 4^g9 par litre) : soit V' le nombre de cent. cubes obtenu avec le liquide à acidité inconnue : on aura comme résultat :

$$\text{Si } V > V' \quad A = 4,9 \pm (V - V') 0,115$$

$$A = 4,9 - (V - V') 0,115$$

$$\text{Si } V' > V$$

$$A = 4,9 + (V' - V) 0,115$$

rouge sombre, était lavée grossièrement de manière à séparer les sels susceptibles de se décomposer ou de se volatiliser (phosphates, chlorures, etc.); ce lavage effectué, le charbon restant sur le filtre était brûlé complètement. Les cendres ordinairement blanches obtenues, étaient traitées par du carbonate d'ammonium afin de ramener à l'état de carbonate les sels de calcium décomposés par la chaleur.

La *crème de tartre* et l'*acide tartrique* total, ont été déterminés par la *méthode de Berthelot* et de *de Fleurieu*, qui est d'ailleurs la méthode officielle. De manière à avoir encore dans ce dosage le maximum de garantie, j'ai établi, pour chaque série, le coefficient de correction. Ce coefficient, qui est fixé ordinairement à 0,2, est variable et doit être établi à chaque essai. A cet effet, je traitai 20 centimètres cubes de liquide contenant une quantité déterminée de crème de tartre proche de la saturation, par 80 centimètres cubes d'un mélange éthéro-alcoolique à parties égales. Par différence entre l'acidité primitivement dosée du milieu et l'acidité de la crème de tartre précipitée, je déterminai la valeur du coefficient à appliquer.

Les méthodes employées étaient susceptibles de donner des résultats sensibles et parfaitement comparables entre eux; j'ai tout lieu d'admettre que les chiffres analytiques obtenus pourront permettre de tirer des conclusions et donneront le moyen de différencier les diverses levures entre elles, sans que, pour cela, on puisse attribuer à un manque de sensibilité des méthodes les différences enregistrées. Ceci étant posé, je vais examiner chacun des éléments dosés et essayer d'en dégager des conclusions intéressantes au point de vue de la classification des levures par leurs propriétés biochimiques.

Alcool. — Au point de vue général, on observe tout d'abord que, quel que soit le milieu, naturel ou artificiel, sur lequel les ferments opèrent, la levure de Médoc donne toujours des proportions d'alcool inférieures à celles produites par les autres. Si on traduit par des chiffres la valeur alcooligène de chaque levure, on verra qu'alors il faut de 17 à 17,4 grammes de sucre au Beaujolais, Romanée, Verzenay, pour faire un degré d'alcool; la levure de Médoc en exige de 17,6 à 17,85 grammes. On peut dire que ces différences ne sont pas dues à une incomplète uti-

lisation du sucre contenu dans les différents milieux puisque, ainsi qu'on a pu s'en rendre compte par ce qui a été déjà dit, il n'existe pas dans les produits fermentés de matière réductrice résiduelle. Par conséquent, on peut admettre que les différences observées dans les quantités d'alcool produites traduisent une activité biologique spéciale et absolument propre à une levure déterminée.

Comme toutes les fermentations ont eu lieu en milieux stérilisés et que des lies examinées au microscope n'ont pas décelé de contamination, on a, de ce fait, une autre preuve que la faiblesse alcoolique propre au Médoc est bien le résultat d'un processus biologique spécial.

On en trouvera enfin une dernière preuve dans le fait que la diminution du titre alcoolique conserve absolument sa valeur dans les essais sulfités. Or, il est aujourd'hui classique, que, dans un milieu naturel non aseptisé, l'addition d'acide sulfureux assure une meilleure utilisation du sucre, et partant un rendement alcoolique plus élevé.

On remarque également un fait intéressant, et déjà observé en pratique courante, que la levure de Beaujolais et celle de Verzenay paraissent être les plus susceptibles de donner le maximum d'alcool, en même temps qu'elles paraissent imprimer au milieu dans lequel elles se développent un cachet spécial qui se retrouvera toujours à la dégustation.

Acidité totale. — L'acidité totale en elle-même n'est pas très intéressante car, à part les produits obtenus avec l'ensemencement Beaujolais, qui sont généralement moins riches en acide, tous les autres essais donnent des résultats sensiblement identiques. Mais on trouvera des différences notables en ce qui concerne la manière dont se comportent les diverses levures vis-à-vis de l'acidité fixe et leur manière d'être au point de vue de leur production d'acidité volatile.

Acidité volatile. — Cet élément, dont le dosage a été fait très soigneusement, donnera des indications intéressantes sur la vie de la levure. Si on considère le chiffre moyen des dosages effectués dans les vins blancs et les vins rouges, on arrive aux résultats suivants :

MILLIGRAMMES D'ACIDITÉ VOLATILE PAR LITRE EN ACIDE SULFURIQUE

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs.	442	399	547	402	393
Rouges	298	298	373	344	327

On a vu, lors de l'étude des milieux de culture, que la quantité d'acide volatil trouvée était du même ordre et paraissait tenir à la levure employée. Les différences peuvent, au premier abord, sembler relativement faibles et tenir aux erreurs de méthode, mais, si on considère que le titre de la liqueur de chaux adoptée est de 0,0022 gramme d'acide sulfurique par centimètre cube de liqueur, on se rend compte que les différences entre les chiffres les plus forts et les plus faibles correspondent à 3 cent. cubes et à 6 cent. cubes de la solution alcaline. On ne peut donc imputer à des erreurs de lecture les résultats dissemblables trouvés.

D'autre part, on voit que les échantillons examinés sont en parfait état de conservation, et leur teneur en acides volatils n'a rien de pathologique.

Voilà donc déjà un caractère biochimique permettant de différencier les diverses levures entre elles.

Acidité fixe. — La détermination de l'acidité fixe donnera également des indications intéressantes sur la manière dont les différents ferments se comportent vis-à-vis des principaux acides entrant dans la constitution du vin. J'ai donc dosé simultanément l'acide tartrique total, la crème de tartre et l'acide tartrique libre, ainsi que l'acide succinique. Pour la recherche de ce dernier acide, j'ai employé la méthode de détermination des acides solubles dans l'éther, mais en m'entourant de certaines précautions que la pratique m'a révélées comme indispensables à l'obtention de résultats constants.

J'opérais sur l'extrait desséché dans le vide en présence de petites quantités de quartz grossièrement pulvérisé, afin d'obtenir une division aussi parfaite que possible de la masse. A l'aide d'un agitateur, le tout était mis dans un flacon d'environ 100 cent. cubes. On ajoutait alors 25 cent. cubes d'éther distillé sur le sodium, à 66°. On agitait à plusieurs reprises pen-

dant environ 10 minutes; on décantait l'éther sans entraîner de matière et on le remplaçait par une quantité égale de liquide nouveau. Après une nouvelle agitation n'excédant pas 5 minutes, on décantait et on réunissait cette deuxième portion de liquide à la première. J'ai pu me rendre compte qu'à la suite de ce deuxième lavage, il était parfaitement inutile d'en faire un troisième.

Les liquides acides réunis étaient évaporés à feux doux

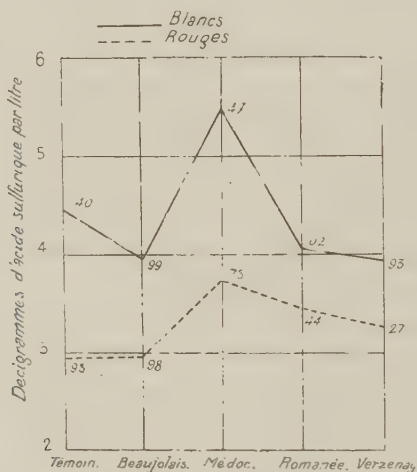


FIG. 1. — Variation de l'acidité volatile (en décigrammes et milligrammes).

et en présence d'une petite quantité d'eau; quand tout l'éther avait distillé, on procédait au dosage en se servant comme base d'une liqueur alcaline de soude, sensiblement vingtième normale.

Comme, indépendamment des acides tartrique et succinique, il en existe d'autres et parmi eux l'acide malique, difficilement dosable, j'ai déterminé ces acides par différences en faisant le bilan de l'acidité fixe.

Comme l'acidité ne change pas dans le milieu, quand on dose soit l'acidité fixe, soit l'acidité correspondante à la crème de tartre et l'acidité qui reste dans le milieu après précipitation, j'ai fait le bilan en me servant des résultats trouvés pour l'acide tartrique total et le tartre. Comme, d'autre part, la teneur en

matière alcaline des vins de 1912 était très faible, cette dernière correspondant sensiblement à la crème de tartre précipitée, j'ai tout lieu de penser que les acides qui se trouvent dans le milieu après précipitation sont à l'état libre. Voici les résultats trouvés par ce moyen et en exprimant tous les acides non déterminés en acide malique.

BILAN DE L'ACIDITÉ DES VINS DE 1912, EN ACIDE SULFURIQUE

DÉSIGNATION des échantillons.	ACIDITÉ fixe.	ACIDITÉ de l'acide tartrique libre.	ACIDITÉ de l'acide tartrique combiné.	ACIDITÉ de l'acide citrique.	ACIDITÉ de l'acide succinique.	ACIDITÉ due aux ac. autres en acide malique.
—	—	—	—	—	—	—
BLANCS :	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
Filtrés { Témoin. . .	4,217	0,470	0,830	»	1,270	1,647
Beaujolais . .	4,223	0,500	0,740	»	1,162	1,821
Médoc . . .	4,285	0,470	0,730	»	1,500	1,585
Romanée . .	4,435	0,470	0,830	»	1,300	1,835
Verzenay . .	4,153	0,470	0,800	»	1,120	1,763
Chauffés { Témoin. . .	4,333	0,400	0,853	»	1,290	1,890
Beaujolais . .	4,449	0,400	0,975	»	1,330	1,744
Médoc . . .	4,862	0,370	1,053	»	1,450	1,989
Romanée . .	4,666	0,375	1,010	»	1,290	1,991
Verzenay . .	4,774	0,443	1,019	»	1,080	2,232
Sulfités { Témoin. . .	4,662	0,323	0,904	0,105	1,370	1,920
Beaujolais . .	4,581	0,302	0,857	0,105	1,370	1,957
Médoc . . .	4,661	0,349	0,811	0,105	1,370	2,027
Romanée . .	4,584	0,302	0,834	0,105	1,300	2,043
Verzenay . .	4,673	0,302	0,857	0,105	1,270	2,049
Filtrés { Témoin. . .	7,667	0,702	1,184	0,070	1,080	4,631
Beaujolais . .	6,802	0,557	1,173	0,070	1,120	3,882
Médoc . . .	7,601	0,431	1,108	0,105	1,245	4,712
Romanée . .	7,571	0,549	1,184	0,070	1,040	4,773
Verzenay . .	7,442	0,396	1,102	0,070	0,897	4,977
Chauffés { Témoin. . .	7,480	0,480	1,238	»	0,913	4,848
Beaujolais . .	7,101	0,396	1,152	»	1,080	4,473
Médoc . . .	7,503	0,307	1,058	»	1,200	4,938
Romanée . .	7,353	0,162	1,152	»	1,120	4,919
Verzenay . .	7,240	0,328	1,058	»	0,913	4,951
Sulfités { Témoin. . .	7,810	0,323	1,034	0,350	0,996	5,107
Beaujolais . .	7,651	0,286	1,069	0,140	1,100	5,056
Médoc . . .	7,766	0,234	1,034	0,280	1,120	5,098
Romanée . .	7,493	0,245	1,069	0,210	0,996	4,993
Verzenay . .	7,685	0,234	1,034	0,140	0,996	5,281

Le bilan étant fait, si on prend la moyenne des valeurs acides différentes de chaque essaiensemencé avec un ferment différé-

rent, on s'aperçoit qu'entre tous c'est l'acidité malique qui est la plus caractéristique. Voyons comment ces acides varient d'une levure à l'autre.

VARIATIONS DE L'ACIDE TARTRIQUE

Acidité tartrique totale en tartre. (Moyenne par litre.)

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
	—	—	—	—	—
	gr.	gr.	gr.	gr.	gr.
Blancs	4,04	4,02	4,08	4,13	4,19
Rouges	5,05	5,10	4,76	4,56	4,70

L'acidité tartrique totale, tout au moins pour les essais en *blancs*, ne paraît pas être influencée par l'espèce de germe qui a transformé le milieu. Pour ce qui est des essais rouges, soit que la quantité initiale de l'élément tartrique ait été plus importante que dans les blancs, soit que l'action des ferments ait été plus brutale, on relève des différences appréciables, variant entre 400 et 600 milligrammes. Ceci n'aurait pas une importance très grande, si on n'admettait, en principe, que l'acide tartrique n'est ordinairement pas attaqué par les saccharomyces. Comme aucun phénomène chimique n'a pu agir, on peut donc dire que, dans une certaine mesure, les levures sont susceptibles de détruire de l'acide tartrique. Si on examine les quantités moyennes d'acide tartrique libre, existant dans chaque essai, on voit que cet élément est encore plus variable.

ACIDITÉ TARTRIQUE LIBRE EN TARTRE

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
	—	—	—	—	—
Blancs	0,763	0,768	0,763	0,733	0,773
Rouges	1,630	1,480	1,320	1,280	1,250

D'après ces données, ce serait surtout l'acide tartrique qui serait touché. Quoi qu'il en soit, *il paraît indéniable que cet acide peut entrer dans la catégorie des hydrocarbures attaqués par les levures.*

Variations de l'acidité malique.

En se rapportant aux chiffres du bilan, on peut suivre la marche des acides autres que les acides tartrique et succinique. Comme la quantité d'acide malique est de beaucoup la plus importante, je ne crois pas faire de grosses erreurs en les exprimant tous en acide malique. Dans le tableau suivant, les résultats sont exprimés en grammes d'acide malique (fig. 2).

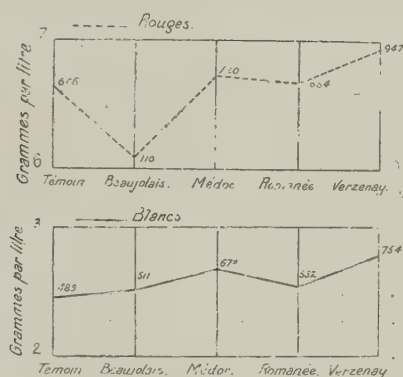


FIG. 2. — Variation de l'acidité malique (en grammes et milligrammes).

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs	2,486	2,511	2,673	2,552	2,754
Rouges	6,646	6,110	6,720	6,684	6,947

Si on transforme la valeur de ces chiffres en acide sulfurique, en les multipliant par le coefficient 0,731, on s'aperçoit que les différences observées entre les produits des diverses levures sont assez importantes. Au point de vue numérique, elles varient pour les blancs entre 2,486 et 2,754 et pour les rouges entre 6,110 et 6,947. Au point de vue organoleptique, on perçoit ces différences, et les vins, soit blancs, soit rouges, paraissent au palais d'autant plus acides qu'ils contiennent plus de ces acides non déterminés. Les vins levurés Médoc et Verzenay, qui en contiennent le plus, sont effectivement les plus acides au goût.

On peut également se rendre compte de l'influence de l'acide sulfureux sur la conservation de ces acides spéciaux; mon collègue E. Dupont et moi avons signalé, dès 1904-1905, l'augmentation de l'acidité dans les vins sulfités. Cette augmentation n'étant pas corroborée par la présence dans le milieu d'une quantité plus grande d'acide tartrique, nous avons pensé qu'elle pouvait provenir de la conservation de l'acide malique; cette hypothèse fut d'ailleurs vérifiée quelque temps après par M. Mestrezat. La variation de ces acides reste toujours la même selon les levures employées, mais du témoin au sulfité, elle est énorme. Le tableau suivant fera voir, mieux que tout commentaire, l'importance de ces variations. Les résultats y sont exprimés en grammes d'acide sulfurique.

INFLUENCE DE L'ACIDE SULFUREUX SUR LA CONSERVATION
DES ACIDES AUTRES QUE L'ACIDE TARTRIQUE

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs filtrés .	1,647	1,821	1,585	1,835	1,763
Blancs sulfités .	1,920	1,947	2,027	2,043	2,049
Rouges filtrés .	4,631	3,882	4,712	4,773	4,977
Rouges sulfités.	5,107	5,056	5,098	4,993	5,281

On a ainsi une confirmation de notre hypothèse première et des résultats de M. Mestrezat. Je profiterai de l'occasion qui se présente à moi pour dire que, quelle que soit la forme sous laquelle on emploie l'acide sulfureux (méta-sulfite, anhydride sulfureux liquide, etc.), le sulfitage se traduira toujours par une augmentation de l'acidité totale. On réduit ainsi à néant les assertions de ceux qui prétendent, d'une manière intéressée, que le méta-sulfite de potasse n'est pas à recommander, car, renfermant de la potasse, il est susceptible de neutraliser une partie des acides. Cela peut être vrai, relativement, mais la conservation des acides ordinairement détruits compense et au delà la petite quantité d'acide tartrique précipité, sous forme de tartre. De l'ensemble de ces résultats, on peut tirer la conclusion *qu'entre toutes les levures il en est qui ont une préférence plus marquée que d'autres pour les acides autres que l'acide tartrique et notamment pour l'acide malique.*

Variations de l'acide citrique.

Bien qu'il soit assez difficile de se faire une idée nette de la manière dont se comportent les levures vis-à-vis de l'acide citrique, on pourra tirer d'utiles renseignements de l'examen des échantillons sulfités. Ainsi qu'il résulte des recherches nombreuses faites par mon ami et collègue Dupont, cet acide existe toujours en assez grande quantité dans le moût de raisin, mais est ordinairement détruit avec la plus grande facilité au cours de la fermentation. Seuls, les essais sulfités conservent presque intégralement leur acide citrique. J'ai demandé à M. Dupont de bien vouloir rechercher cet acide dans mes essais de 1912; on a vu dans l'établissement du bilan en quelle proportion il se trouvait dans les différents milieux.

Il ressort nettement de ces dosages que la levure de Médoc paraît être celle qui consomme le moins de cet acide; effectivement, si on examine les chiffres donnés pour les essais rouges filtrés et sulfités, on s'aperçoit qu'entre le Médoc et le Verzenay, par exemple, les proportions varient du simple au double. L'acide sulfureux conservant ordinairement l'acide citrique, on peut donc dire que *les différences observées tiennent bien à la façon d'être des ferments vis-à-vis de cet élément.*

Variations de l'acide succinique.

Cet acide varie avec les levures employées, et cette variation est d'autant plus intéressante qu'il ne préexiste pas dans le milieu et est un produit de l'activité biologique du ferment. Les travaux de Pasteur nous ont appris, en effet, que chaque fois qu'il se produit une fermentation alcoolique dans un milieu sucré, il y a formation d'acide succinique. D'après Rau, il paraît exister une relation directe entre la production d'alcool et celle de l'acide succinique. On verra plus loin que dans mes essais cette assertion ne se vérifie pas avec toutes les levures.

Si on prend la moyenne des résultats obtenus analytiquement, on peut établir le tableau suivant :

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs	1,577	1,549	1,733	1,561	1,393
Rouges	1,200	1,324	1,430	1,266	1,125

Ces chiffres représentent l'acidité en acide succinique; pour avoir la teneur en acide sulfurique, on les multipliera par 0,830. Le rapport existant entre les poids d'alcool et ceux d'acide succinique varie entre 1,42 p. 100 et 1,85 p. 100. En un mot, *le rapport n'est pas constant et varie avec la levure utilisée.*

Variation de l'extrait sec.

Au cours des analyses, j'ai été surpris de constater que toutes les levures ne se comportaient pas vis-à-vis des matières extractives de la même manière, et qu'on pouvait relever pour certains ferments une espèce d'*atténuation* comparable à celle que l'on observe dans la brasserie.

On désigne, en brasserie, sous le nom d'*atténuation*, la proportion centésimale d'extrait qu'une levure peut faire fermenter. Le degré d'*atténuation* est variable avec les espèces de levures. On sait, en effet, que les levures *Saaz* donnent une *atténuation* faible, car elles ne touchent guère aux dextrines. Les levures de *Frohberg*, au contraire, donnent une *atténuation* élevée, car elles font fermenter une partie des dextrines plus ou moins attaquables. La levure *Logos* aurait même, d'après Van Laer et Denamur, la propriété de pousser plus loin l'*atténuation*, en détruisant les dextrines inattaquées par *Frohberg*. Ces différences entre les levures seraient dues à une sécrétion plus ou moins abondante de diastases saccharifiantes susceptibles de transformer la dextrose en maltose.

L'*atténuation* dans les vins est surtout donnée au maximum par les levures de Verzenay et de Beaujolais. L'*atténuation* paraît, au contraire, être nulle pour le Médoc. Voici la moyenne des chiffres en grammes de l'extrait à 100 degrés pour chaque levure :

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs	16,56	16,14	17,00	16,92	15,18
Rouges	20,52	19,15	20,27	20,05	18,52

Comme on le voit, cette *atténuation* est relativement considérable en ce qui concerne les produitsensemencés avec le Verzenay, puisque les différences enregistrées entre le témoin et lui sont d'environ 1 gr. 4 pour les vins blancs et de 1 gr. 75

pour les rouges. De manière à me rendre compte si ces différences étaient dues véritablement à l'action de la levure ou à des erreurs provenant de la méthode de dosage à 100 degrés, j'ai recommencé les déterminations en me servant du vide. Voici les résultats que j'ai obtenus (fig. 3) :

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs	17,76	17,55	19,22	18,03	17,32
Rouges	21,76	20,78	22,37	21,28	20,88

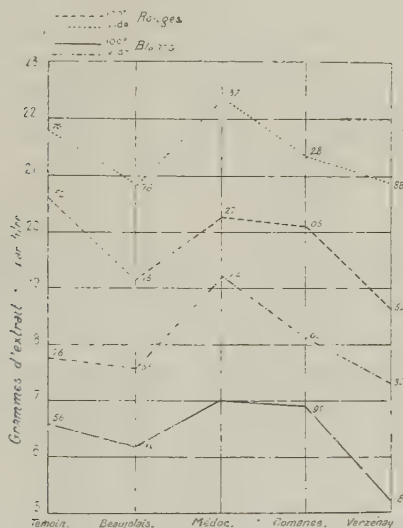


FIG. 3. — Variation des extraits secs à 100 degrés et dans le vide (en grammes et centigrammes).

On voit qu'ici encore l'atténuation reste évidente. Cependant les moyennes que je donne sont au-dessous de la réalité, car, dans leur établissement, rentrent les résultats se rapportant aux essais sulfités. Dans ces derniers, en effet, l'action atténuante des levures paraît être annihilée, ou du moins paraît être la même pour toutes, sauf cependant pour le Médoc, où le poids de l'extrait reste supérieur à celui des autres essais.

A propos de l'acide sulfureux, on peut faire ici encore une observation identique à celle qu'on a enregistrée quand on a étudié les variations de l'acide malique. Les gains en extrait sec des essais sulfités sont trop importants pour qu'on n'établisse

pas un parallèle entre les vins témoins et ceux ayant reçu de l'antiseptique.

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs filtrés . .	17,40	16,95	18,45	17,70	16,40
Blancs sulfités .	17,90	17,85	19,25	18,00	17,95
Rouges filtrés .	21,50	20,20	22,35	21,20	20,60
Rouges sulfités.	22,10	20,60	22,45	21,59	21,50

De même que l'on sait à quoi est due l'atténuation donnée par les levures en brasserie, de même j'ai cherché à savoir sur quel élément portait l'action des ferments en le détruisant ou en le conservant. Pour cela, je me suis livré à la recherche des constituants de la manière extractive. Le bilan de l'acidité me donne déjà les matières acides; indépendamment de ces corps, j'ai dosé les matières minérales et le tanin; enfin, la glycérine.

Le dosage de la *glycérine* donnera des indications intéressantes, car c'est encore un des produits de l'activité biologique. Cet élément varie, en effet, selon les levures; Effront, Laborde ont vu que la glycérine se produisait surtout dans les dernières périodes de la fermentation. On a vu également qu'elle variait avec la nature du milieu et la race de levure, ainsi qu'avec la présence, sur le raisin, d'une quantité importante de *botrytis cinerea*.

Les poids de glycérine que j'ai déterminés font bien voir l'influence de la race de levure; cependant les variations n'atteignent pas des proportions énormes et telles que certains auteurs en ont signalé.

La question du dosage est très délicate, car quelle que soit la méthode suivie, on est obligé de s'entourer de précautions permettant de se préserver de certaines contingences qui pourraient fausser les résultats. J'ai essayé la plupart des méthodes recommandées en ces dix dernières années; malheureusement, soit manque d'habileté de ma part, soit difficultés matérielles rencontrées dans leur application, je n'ai jamais pu obtenir des résultats constants. J'en suis donc revenu tout simplement à la méthode de Pasteur, mais en opérant sur 100 cent. cubes de produit complètement fermenté.

Le volume de liquide était évaporé dans une capsule de por-

celaine dans une étuve à air chaud et de manière que la température ne dépasse jamais 50 degrés; comme à cette température l'évaporation est très longue et que le liquide est susceptible de fleurir ou de moisir, il faut avoir soin de mettre dans la capsule deux à trois gouttes d'essence de moutarde. L'évaporation obtenue, on continue le dosage comme l'a indiqué Pasteur.

Voici les résultats obtenus dans les conditions de l'expérience, c'est-à-dire en opérant sur des vins ayant fermenté normalement et sans retard appréciable les uns par rapport aux autres.

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs filtrés . .	7,64	7,42	8,34	7,50	6,87
Blancs chauffés.	7,72	7,56	8,60	7,60	6,88
Blancs sulfités .	7,50	7,50	7,82	7,56	7,42
Rouges filtrés. .	6,18	6,06	6,82	5,96	5,80
Rouges chauffés.	5,96	6,00	6,96	6,40	5,96
Rouges sulfités .	6,02	6,10	6,12	5,98	5,96

Par l'examen des quantités de glycérine, on s'aperçoit que l'atténuation que l'on a observée pour certains extraits secs pourrait bien être due à un manque de glycérine.

La moyenne de cet élément ressortira (fig. 4) pour chacun des ferments et pour les essais blancs ou rouges à :

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs	7,62	7,49	8,25	7,55	7,05
Rouges. . . .	6,05	6,05	6,63	5,98	5,90

Si on se rapporte à la richesse saccharine initiale du milieu, on voit que la quantité de glycérine formée se trouve être dans le rapport de 3,4 à 4 p. 100 du poids du sucre (1). Voici, en effet, la valeur de chacun de ses rapports :

TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
3,6	3,59	3,96	3,59	3,44

(1) Les variations de la glycérine dans mes essais sont donc loin d'être comparables à celles signalées par M. Laborde. Cet auteur prétend en effet que diverses levures pures ont donné des proportions de glycérine variant entre 2,50 et 7,75 p. 100 du poids de sucre. Il me paraît difficilement admissible que ces différences soient obtenues dans les mêmes milieux, car il faudrait supposer alors que l'extrait sec, très normal dans un cas, serait énorme dans l'autre. Autrement dit, pour un vin de 12 degrés on aurait des différences entre les deux extraits pouvant atteindre 10,70 grammes.

Contrairement à ce qui a été avancé par certains auteurs, il n'y a pas, tout au moins dans mes conditions d'expérience, de rapport constant entre les quantités de sucre détruit et de glycérine. On remarque, par contre, que la levure qui donne le maximum de glycérine est la plus pauvre en alcool (Médoc); inversement, le Verzenay, riche en alcool, est pauvre en glycérine.

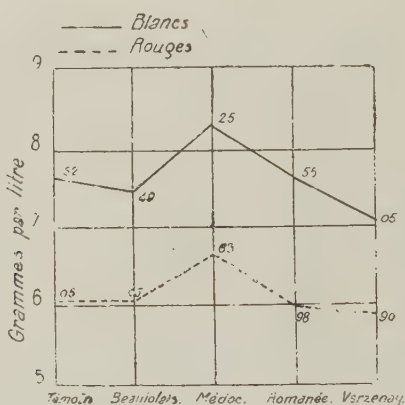


FIG. 4. — Variation de la glycérine (en grammes et centigrammes).

A propos du dosage de la glycérine, j'ai voulu me rendre compte de la valeur de l'évaporation qui peut se produire au moment où on fait les extraits secs. Cette évaporation est relativement faible; en effet, si on considère les différences qui existent entre les extraits dans le vide et à 100 degrés, on voit qu'elles ne sont pas toujours proportionnelles à la quantité de glycérine renfermée dans le milieu. Voici la valeur du rapport existant entre les différences des deux extraits et le poids de l'extrait à 100 degrés :

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs. . .	7,25 p. 100	8,73 p. 100	13,00 p. 100	6,56 p. 100	14,00 p. 100
Rouges. . .	6,04 p. 100	8,50 p. 100	10,37 p. 100	6,13 p. 100	12,74 p. 100

On se rend compte, par cela, que la méthode de dosage qui se baserait sur les différences des extraits pour déterminer la glycérine serait complètement erronée.

Bilan des matières extractives. — Connaissant la valeur des extraits secs dans le vide et la majeure partie des constituants, on peut essayer de déterminer le bilan des matières extractives : on verra, par cette étude, qu'on arrive à reconstituer, à peu de chose près, le poids de l'extrait.

Les différences qu'on relève s'appliquent aux corps non dosés (matières pectiques, matières azotées, eau de constitution des sels déshydratés) ainsi qu'aux corps nouveaux formés pendant l'incinération, et notamment aux pyrosels, de molécule ordinairement plus condensée que les sels primitifs d'où ils proviennent. (Voir tableau ci-contre.)

Comme on le voit, la proportion de matières non dosées n'est pas très considérable et peut très bien être regardée comme représentant sensiblement les nombreux corps azotés, phosphatés, chlorurés, brûlés ou transformés. On remarque également qu'entre toutes les levures, celle qui paraît laisser le maximum de corps est la levure de Médoc, dont on a déjà vu les nombreuses particularités. Celles qui paraissent en donner moins sont les ferments de Verzenay et de Beaujolais.

En résumé, on peut tirer de l'ensemble de ces données la conclusion suivante : *toutes les levures ont une façon spéciale de se comporter vis-à-vis des matières extractives, et leur action porte surtout sur la production de glycérine et d'acide succinique.* L'acide sulfureux paraît agir comme agent de conservation de l'extrait; toutes les levures, soit qu'elles se trouvent dans de plus mauvaises conditions de travail, soit qu'au contraire cet agent antiseptique joue dans le milieu fermentescible le rôle joué par les fluorures dans les fermentations industrielles, donnent sensiblement les mêmes quantités de glycérine.

Variations des éthers.

La quantité d'acides volatils étant différente selon les ferments examinés, je me suis demandé si le poids d'éther par litre suivrait une marche parallèle à celle des acides. J'ai adopté, pour leur recherche, la méthode indiquée par M. Gayon.

BILAN DES MATIÈRES EXTRACTIVES EN GRAMMES PAR LITRE

EXTRAIT dans le vide.	ACIDE tartrique combiné.	ACIDE tartrique libre.	ACIDE succinique.	ACIDE citrique.	AC. AUTRES en acide malique.	GLYCÉRINE	MATIÈRES minérales autres que CO ₂ K ₂	TANIN	MATIÈRES non dosées
Blancs :									
17,40	3,510	0,900	1,530	"	2,233	7,640	0,350	0,360	0,857
46,95	3,180	0,960	1,400	"	2,490	7,420	0,533	0,370	0,597
48,45	3,140	0,900	1,800	"	2,170	8,340	0,658	0,360	1,082
47,70	3,550	0,900	1,560	"	2,510	7,500	0,620	0,360	0,700
16,40	3,420	0,890	1,350	"	2,410	6,870	0,540	0,360	0,560
48,00	3,500	0,773	1,550	"	2,584	7,720	0,696	0,360	0,817
17,55	4,045	0,767	1,600	"	2,386	7,360	0,676	0,350	0,466
19,35	4,170	0,717	1,750	"	2,721	8,600	0,690	0,360	0,912
18,35	4,045	0,720	1,350	"	2,723	9,600	0,745	0,360	0,641
17,60	3,960	0,850	1,300	"	3,053	6,880	0,736	0,360	0,461
17,90	3,510	0,620	1,600	0,450	2,770	7,500	0,450	0,360	0,940
17,85	3,345	0,580	1,650	0,150	2,820	7,500	0,753	0,360	0,692
19,25	3,845	0,670	1,650	0,150	2,916	7,820	0,773	0,360	1,066
18,05	3,260	0,580	1,560	0,450	2,938	7,360	0,788	0,360	0,788
17,95	3,470	0,580	1,550	0,450	2,946	7,420	0,867	0,360	0,627
Rouges :									
24,50	4,543	1,820	1,300	0,100	3,966	6,180	0,333	0,380	0,878
20,20	4,500	1,630	1,350	0,100	3,310	6,060	0,350	0,380	0,627
22,35	4,253	1,470	1,500	0,150	6,456	6,820	0,299	0,380	1,032
21,20	4,543	1,410	1,250	0,100	6,530	5,960	0,293	0,380	0,734
20,60	4,253	1,280	1,080	0,100	6,809	5,800	0,359	0,380	0,549
21,70	4,750	1,740	1,400	"	6,632	5,960	0,377	0,380	0,761
20,55	4,420	1,560	1,300	"	6,119	6,000	0,338	0,380	0,433
22,30	4,060	1,250	1,450	"	6,755	6,960	0,550	0,380	0,895
21,45	4,420	1,450	1,350	"	6,750	6,100	0,418	0,380	0,592
20,55	1,060	1,290	1,400	"	6,773	5,960	0,560	0,380	0,427
22,10	3,970	1,330	1,200	0,500	6,986	6,020	0,763	0,380	0,951
21,60	4,012	1,250	1,320	0,200	6,917	6,100	0,738	0,380	0,683
22,45	3,970	1,450	1,350	0,400	6,974	6,120	0,803	0,380	1,103
21,50	4,094	1,300	1,200	0,300	6,850	5,880	0,718	0,380	0,798
21,50	3,970	1,200	1,200	0,200	7,225	5,960	0,753	0,380	0,612

D'après cet auteur, quand on distille 110 cent. cubes de vin et qu'on en recueille 100 cent. cubes, autrement dit, quand on emploie la méthode de Duclaux à la recherche de l'acidité volatile, il y a dans le distillat les 80 p. 100 de l'acidité volatile et des deux tiers des éthers contenus dans le vin. J'ai voulu, pour les essais particuliers que j'ai faits, employer cette méthode en la contrôlant, et je suis arrivé à des résultats très comparables à ceux de M. Gayon.

L'acidité volatile déterminée à l'aide d'eau de chaux, j'ajoutais un fort excès de soude vingtième normale, puis je faisais bouillir une heure avec réfrigérant à reflux. L'excès de soude était ensuite neutralisé avec une solution d'acide sulfurique, également vingtième normale. Voici les résultats des essais de contrôle. Les chiffres donnés représentent le nombre de centimètres cubes de liqueur de soude $\frac{N}{20}$ employés à la saponification des éthers.

PREMIER ESSAI SUR VINS ISSUS DE MOÛTS SULFITÉS

	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
	—	—	—	—
	cc.	cc.	cc.	cc.
1 ^{re} distillation .	4,5	3,9	5,5	3,30
2 ^e distillation .	1,8	1,5	0,9	1,16
3 ^e distillation .	0,5	0,5	0,2	0,55
4 ^e distillation .	»	»	0,2	»
5 ^e distillation .	»	»	»	»
Total	6,8	5,9	5,3	5,00
Proportion p. 100 de la 1 ^{re} distillation.	66,17	66,10	66,00	66,30

DEUXIÈME ESSAI SUR VINS ISSUS DE MOÛTS CHAUFFÉS

	cc.	cc.	cc.	cc.
1 ^{re} distillation .	3,3	5,2	4,2	4,8
2 ^e distillation .	1,0	1,3	1,4	1,2
3 ^e distillation .	0,5	0,9	0,5	0,8
4 ^e distillation .	0,2	0,4	0,2	0,4
5 ^e distillation .	»	»	»	»
Total. . . .	5,0	7,8	6,3	7,2
Proportion p. 100 de la 1 ^{re} distillation.	66,30	66,60	66,60	66,60

La vérification étant faite, j'ai procédé à la recherche des

éthers de tous les essais. Voici les résultats en acétate d'éthyle et en grammes par litre :

	TÉMOIN	BEAUJOLAIS	MÉDOC	ROMANÉE	VERZENAY
Blancs filtrés . . .	0,195	0,195	0,228	0,201	0,299
Blancs chauffés . .	0,195	0,159	0,208	0,159	0,228
Blancs sulfités . .	0,208	0,159	0,232	0,208	0,265
Rouges filtrés. . .	0,195	0,171	0,220	0,195	0,232
Rouges chauffés. .	0,318	0,293	0,330	0,305	0,342
Rouges sulfités . .	0,159	0,171	0,208	0,183	0,233

De tous les essais, ceux qui sont les plus riches en éthers sont ceux qui ont étéensemencés avec les levures de Médoc et de Verzenay. Il semblerait donc qu'il y ait une relation entre l'acidité volatile et l'éther, mais il n'y aurait pas proportionnalité entre ces deux éléments. En effet, le Verzenay, quoique toujours moins riche en acide volatil, est souvent aussi chargé en éther que les essaisensemencés de Médoc. On voit, d'autre part, que la quantité d'acides éthérifiés n'est pas très considérable dans les vins du Midi. Il ressort cependant de ces recherches que *toutes les levures ont une faculté qui leur est propre de produire plus ou moins d'éthers.*

CONCLUSIONS.

Ces conclusions peuvent être de deux ordres : théoriques et pratiques.

Au point de vue théorique, elles se résument dans les quelques points suivants :

1° Toutes les levures ne réagissent pas de la même manière vis-à-vis d'un même milieu, et cela tant au point de vue organoleptique qu'au point de vue chimique ;

2° On observe chez quelques-unes d'entre elles une faculté d'atténuation comparable à celle observée depuis longtemps pour certaines levures de brasserie. L'atténuation observée, plus particulièrement chez la levure de Verzenay, porte surtout sur la glycérine et l'acide succinique ;

3° La levure de Médoc donne toujours un extrait sec plus considérable que celui que l'on trouve dans les autres milieux,

sans qu'il y ait pour cela un restant de matières réductrices non utilisées.

4° Certaines levures, celle de Médoc en particulier, ont une propension toute particulière à la production d'acides volatils.

5° La production par quelques levures d'acidité volatile en proportion plus considérable, n'est pas corrélative à la présence dans le milieu de germes pathogènes, tels que la tourne, qui, utilisant à leur profit une partie du sucre, donnent des acides volatils et appauvrissent le milieu en alcool. On se trouve donc bien en présence d'un caractère biochimique nettement déterminé.

6° Les acides fixes sont différemment et plus ou moins attaqués par les diverses levures. L'acide tartrique lui-même, considéré ordinairement comme inattaquable, ne se retrouve pas avec la même valeur dans tous les essais; celui qui, cependant, paraît être le plus fragile, est l'acide malique, ou tout au moins celui que nous avons considéré comme tel; il est différemment attaqué par chacune des levures. La levure de Verzenay paraît être moins avide de cet acide que les autres; elle partage cette propriété avec la levure de Médoc. Cela explique pourquoi, organoleptiquement, les produits provenant de moûts ensemencés avec le Verzenay paraissent plus acides que ceux ensemencés avec la levure de Beaujolais par exemple. Leurs produits n'accusent cependant pas, à l'analyse générale, de différences sensibles entre les acidités totales.

7° La quantité d'éthers contenus dans les vins paraît également tenir à la biologie des ferments. En effet, il n'y a pas toujours correspondance absolue entre les quantités d'acides volatils déterminés et la quantité d'éthers formés. Le Verzenay donne ici encore une quantité d'éthers supérieure à celle que l'on rencontre dans les autres essais.

Au point de vue de l'analyse des vins, on peut tirer des expériences que j'ai entreprises, des conclusions intéressantes. En effet, un vin naturel ensemencé avec du Verzenay et ayant peu cuvé, pourrait être à tort inculpé de vinage, car le rapport entre le poids de l'alcool et de l'extrait sera relativement fort. En effet, si mes essais en rouge ne peuvent être considérés comme représentant le type des vins de vendange entière, ils peuvent, au contraire, être assimilés aux vins rosés. Dans ce

cas, si on applique à la recherche du vinage le chiffre 4,6 comme valeur maxima du rapport extrait, on s'aperçoit notamment que, dans les essais de 1911, tous les vins peuvent être considérés comme vinés et dans des proportions comprises entre 5 et 27 p. 100.

Au point de vue pratique, la connaissance des propriétés de chaque levure pourra ouvrir un champ nouveau à l'application du levurage en vinification. En s'en tenant seulement aux différences enregistrées entre les caractères organoleptiques imprimés aux mêmes milieux par les levures de Verzenay et de Beaujolais, on se rend compte que, dans les pays chauds, où le manque d'acidité est la règle générale, il y aura intérêt à employer une levure telle que celle de champagne, susceptible, ainsi que nous l'avons vu, de conserver le maximum de fraîcheur aux produits qui en dérivent. Dans les pays froids, par contre, où l'acidité est ordinairement très grande, on aura intérêt à adopter des levures qui atténuent cette acidité.

Le travail auquel je me suis livré n'a pas la prétention d'être complet; il faudrait, pour cela, faire porter la même étude sur tous les ferments indigènes et sélectionnés provenant des raisins. J'ai voulu par ces recherches apporter une simple contribution à la biochimie des levures les plus communément employées dans le midi de la France. Je me propose d'ailleurs, dans une étude ultérieure, de pousser mes recherches plus loin, de manière à fixer, d'une manière aussi précise que possible, les conditions d'emploi des levures en vinification.

BIBLIOGRAPHIE

- C. AMTHOR. — Studien über reine Hefen. *Zeitschrift für physiologische Chemie*, XII (1888).
- A. BERNARD. — Acidimétrie des moûts, vins et vinaigres par la méthode volumétrique gazeuse (1898).
- A. BOUFFARD et DUPONT. — L'acidimétrie des moûts et des vins par la méthode volumétrique gazeuse. *Revue de viticulture* (1898).
- DUCLAUX. — Sur la conservation des levures. *Ann. de l'Institut Pasteur* (1889).
- E. DUPONT. — L'acide citrique naturel des vins. *Revue de viticulture* et *Ann. de chimie analytique* (1908).
- E. DUPONT. — La méthode volumétrique gazeuse en acidimétrie. *Progrès agricole* (1912).

- E. DUPONT et J. VENTRE. — L'acide sulfureux en vinification. *Progrès agricole* (1906-1908); *Annales de l'Ecole d'Agriculture* (1907).
- EFFRONT. — Influence de l'acide fluorhydrique et des fluorures sur les levures de bière. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences* (1893).
- C. FORTI. — Contribuzione alla conoscenza dei lieviti di vino. *Stazioni sperimentali agrarie italiane*, XXI (1891).
- GAYON. — *Sur les éthers du vin*. Bordeaux (1903).
- JACQUEMIN. — Du saccharomyces ellipsoïdeus et de ses applications industrielles à la fabrication d'un vin d'orge. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences* (1888).
- KAYSER. — Contribution à l'étude des levures de vin. *Annales de l'Institut Pasteur*, VI (1892).
- KAYSER et BARBA. — Rapport sur des expériences de vinification faites dans le Gard. *Bull. du ministère de l'Agriculture* (1893-1903).
- LABORDE. — Sur les variations de la production de glycérine pendant la fermentation alcoolique du sucre. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences* (1899).
- LAER et DENAMUR. — Notice sur une levure à atténuation limite très élevée. *Moniteur scientifique* (1895).
- E. MACH et K. PORTELE. — Ueber die Veränderungen im Gehalt von Gesamtsäure und Glycerin während der Gährung und Lagerung der Weine. *Versuchsstationen*, XLI (1892), Berlin.
- MARTINAND et RIETSCH. — Des microorganismes que l'on rencontre sur les raisins mûrs et de leur développement pendant la fermentation. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences* (1890).
- L. MARX. — Les levures de vin. *Moniteur scientifique* (1888).
- MESTREZAT. — L'acide malique dans les moûts et les vins. *Ann. chimie analytique* (1907).
- PASTEUR. — *Etudes sur le vin* (1872).
- PASTEUR. — *Etudes sur la bière* (1876).
- PICHL. — Sulla fermentazione del mosto di uva con fermenti selezionati. *Annali della R. Scuola di viticoltura e di œnologia in Conegliano* (1892).
- RIETSCH. — De la possibilité de communiquer divers bouquets aux vins par addition à la cuve de levures cultivées. *Bull. de la Société d'Agriculture* (1890).
- ROMMIER. — Sur la possibilité de communiquer le bouquet d'un vin de qualité à un vin commun en changeant la levure qui le fait fermenter. *Bull. de la Société chimique de Paris* (1889).
- ROSENSTIEHL. — Procédé de vinification par stérilisation des moûts. *Revue de viticulture* (1897).
- ROSENSTIEHL. — Sur les vins obtenus par chauffage préalable de la vendange. *Revue de viticulture* (1899).
- ROSENSTIEHL. — Sur le bouquet des vins obtenus par la fermentation des moûts stérilisés. *Revue de Viticulture* (1900).
- ROSENSTIEHL. — Rôle des levures et du cépage dans la formation du bouquet des vins. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences* (1908).
- SEIFERT et REISCH. — Entstehung des Glycerins bei der alkoholischen Gährung. *Centb. f. Bact. und Paras.*, XII (1904).
- J. VENTRE. — *Les levures en vinification*. Montpellier (1911).
- J. WORTMANN. — Anwendung und Wirkung reiner Hefen in der Weinbereitung, Untersuchungen ueber reine Hefen. *Landw. Jahrbücher* (1892-1894).

LE COCCOBACILLE DES SAUTERELLES

par F. D'HERELLE

I

LES SAUTERELLES

Historique. — De tout temps, les sauterelles ont été considérées comme un véritable fléau. Tous les pays tropicaux et subtropicaux en souffrent périodiquement, et si, maintenant, grâce à la facilité des échanges, la faim et son cortège obligé d'épidémies peut être évitée, les pertes matérielles sont souvent très élevées, se chiffrant parfois à plusieurs centaines de millions.

La Bible, les historiens grecs, latins et arabes nous ont conservé le souvenir d'un grand nombre d'invasions suivies de famines et d'épidémies qui ont décimé les régions envahies par les sauterelles. Dans les temps modernes, les ravages de ces insectes n'ont pas été moins redoutables.

Depuis la conquête, l'Algérie a compté plus de vingt-cinq années d'invasion, et la Métropole a souvent dû venir en aide à la colonie envahie en votant des crédits spéciaux pour l'organisation de la lutte contre le redoutable insecte. Il n'y a pas cinquante ans, en 1867-68, la famine amenée par une invasion de *Schistocerca peregrina* causa la mort de plus de 500.000 Arabes.

Extension. — Plus de la moitié de la surface de la terre est soumise aux incursions périodiques des sauterelles. En Europe, le sud de l'Espagne, de l'Italie, la Grèce, les Etats balkaniques, la Hongrie, le sud de la Russie et les îles de la Méditerranée; toute l'Afrique, à l'exception des parties centrales boisées et humides; Madagascar; l'Asie en entier; les Philippines, Bornéo et, en général, toutes les grandes îles du Pacifique et

de l'océan Indien; l'Australie et la Nouvelle-Zélande; l'Amérique, depuis le Canada jusqu'à la Terre de Feu, à l'exception de la partie orientale des Etats-Unis, d'une partie de l'Amérique centrale et des vallées humides et chaudes des grands fleuves brésiliens.

Biologie. — Les acridiens migrants, *vulgo* : sauterelle, quand il s'agit de l'insecte parfait ailé; criquet, quand l'insecte est encore à l'état de larve aptère; et mouche, pour cette même larve depuis le moment de l'éclosion jusqu'à la première mue, appartiennent à la famille des Orthoptères sauteurs, qui se divise en Locustides et Acrides.

Les Locustides, qui se reconnaissent à leurs longues antennes et au long oviscapte de la femelle, sont communes en Europe; on ne compte parmi elles aucun insecte nuisible.

Les Acrides ont toujours les antennes plus courtes que la moitié de la longueur du corps, et les femelles sont dépourvues d'oviscapte. On pourrait diviser les Acrides en deux catégories :

1° Les grands migrants, qui vivent dans les régions tropicales et envahissent pendant l'été les contrées sub-tropicales et même tempérées. Espèces essentiellement voyageuses qui peuvent franchir d'énormes distances, plusieurs milliers de kilomètres; le temps d'incubation est relativement court, de quinze à quarante jours suivant la température ambiante; quoique ordinairement végétariennes, elles sont omnivores, malgré l'assertion contraire que l'on trouve dans tous les traités d'entomologie, et les criquets se dévorent voracement entre eux, ce qui, je crois, est la principale cause de la limitation de l'espèce. Les deux espèces principales sont : *Schistocerca peregrina* Olivier, dans l'ancien Continent, et *Schistocerca americana* Drury, en Amérique; ces deux espèces sont d'ailleurs tellement voisines qu'en réalité elles n'en forment qu'une seule et doivent provenir de la même souche, comme l'a prétendu Giard.

2° Les petits migrants qui vivent dans les contrées sub-tropicales et tempérées et qui se sont adaptées aux conditions climatiques de ces régions : la ponte a lieu à la fin de l'été, les œufs passent l'hiver en terre et l'éclosion a lieu au printemps suivant. Les principales espèces sont : *Stauronautus maroccanus*, *Caloptenus italicus*, *Pachytylus migratorius*, dans

l'ancien Continent; *Caloptenus spretus*, dans l'Amérique du Nord; et un *Caloptenus* (sp?), dans le Sud de la République Argentine.

Schistocerca americana. — Pour la compréhension de la suite de ce mémoire, je dois entrer dans quelques détails sur les mœurs de cet insecte. A l'exception des données géographiques, naturellement, tout ce que j'en dirai se rapporte également à *Schistocerca peregrina*.

Insectes de grande taille, les *Schistocerca* adultes mesurent de 6 à 7 centimètres de longueur. La femelle pond de quatre à onze fois à un intervalle de quinze à quarante jours; chaque ponte se compose de soixante à quatre-vingt dix œufs, déposés en une seule fois dans un trou perforé dans le sol par l'insecte; ces œufs sont enrobés dans une sécrétion mucilagineuse qui se parchemine et les protège contre les moisissures et empêche qu'ils ne se dessèchent. Suivant la température, les œufs éclosent de quinze à quarante jours après la ponte. L'évolution des larves ou criquets dure de quarante à soixante jours, suivant la température et la quantité d'aliments dont ils disposent; pendant ce laps de temps, l'insecte subit cinq mues successives. Dépourvus d'ailes, les criquets s'avancent en courant sur le sol; effrayés, ou désirant franchir un obstacle, ils progressent par bonds qui peuvent atteindre une vingtaine de centimètres en hauteur et 30 en longueur. Immédiatement au sortir de l'œuf a lieu une première mue; six à huit jours après, une seconde; entre ces deux mues, les jeunes criquets ou mouches ne se déplacent pas, les bandes restent groupées en amas compacts; la seconde mue effectuée, elles se mettent en marche et forment les colonnes si redoutées; elles commencent à franchir une centaine de mètres par jour; les criquets grandissent peu à peu et arrivent à parcourir aisément plus de 5 kilomètres en vingt-quatre heures. Les criquets marchent de jour, se reposent de nuit, mangeant de jour comme de nuit; ils sont d'une voracité extraordinaire; les bandes marchent droit devant elles, ravageant tout sur leur passage, herbe, moissons, feuilles et même l'écorce des arbres; derrière elles, le sol est semblable à une aire de terre battue; les insectes sont tellement pressés les uns contre les autres qu'une bande, traversant une voie de chemin de fer, arrête les trains dans leur marche; la loco-

tive patine sur la couche grouillante; il n'y a qu'à attendre que la colonne soit passée, parfois des heures entières.

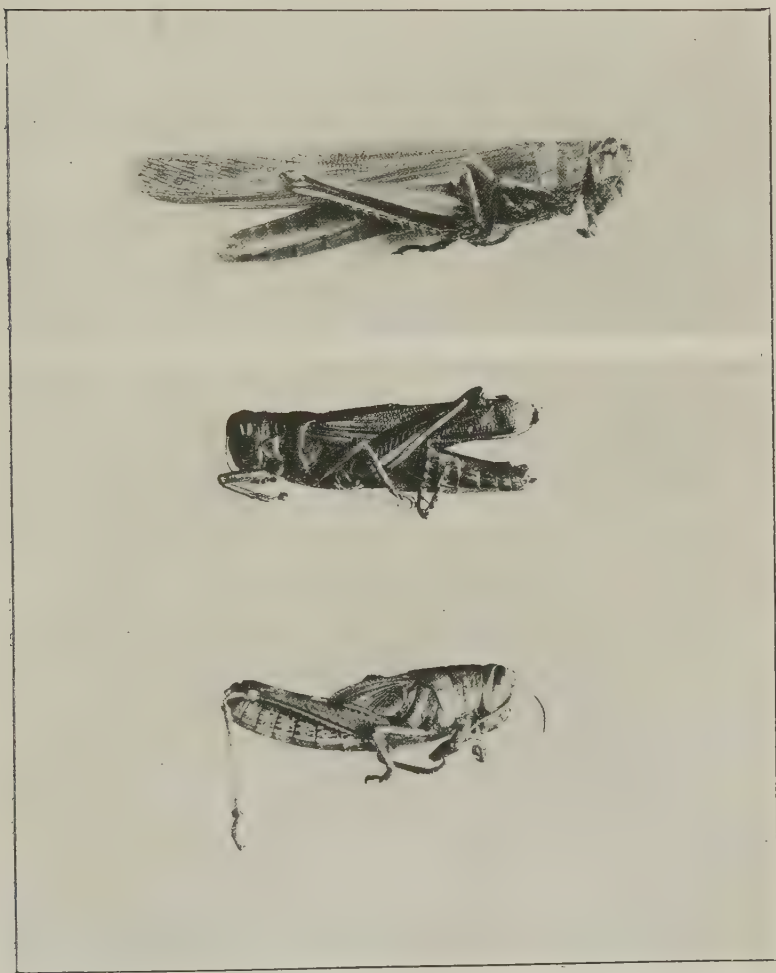


FIG. 1.

1. Sauterelle adulte normale (*Schistocerca americana*).
2. Sauterelle adulte normale capturée dans les bandes infestées à Rafacla (République Argentine).
3. Criquet (larve) normal de *Schistocerca americana*.

La digestion, chez les acridiens, n'est pas poussée à un stade avancé; les excréments sont composés de débris végétaux dont

la structure n'est même pas altérée, et ils donnent l'impression que, seuls, les sucs sont assimilés; chose étrange, le contenu intestinal est parfois aseptique et, en tous cas, la flore en est toujours remarquablement pauvre, contrairement à ce qu'on observe chez les herbivores; les matières ingérées ne font que traverser le tube intestinal, n'y séjournant que quelques minutes; tout cela explique la quantité énorme de nourriture que ces insectes doivent absorber pour subsister, plusieurs fois leur propre poids en vingt-quatre heures.

Comme je l'ai déjà fait remarquer, les sauterelles, et surtout les criquets, se dévorent avidement entre eux; aussitôt que l'un d'eux est, pour une cause quelconque, affaibli, les autres se jettent sur lui et le mangent. Il arrive souvent que des bandes se composent de criquets de différentes tailles, soit que les éclosions ne se soient pas faites à la même époque, soit que des bandes d'âge différent se soient mélangées; dans ce cas, surtout dans les régions arides où la nourriture est rare, les criquets les plus âgés arrivent à dévorer tous les plus jeunes: le plus puissant ennemi de la sauterelle, c'est la sauterelle elle-même.

La durée de la période larvaire est de quarante jours à deux mois, suivant les circonstances locales; après une sixième mue, l'insecte est parfait. Les sauterelles ailées restent une vingtaine de jours dans la région où a eu lieu la dernière mue, volant de-ci de-là, puis elles se réunissent en bande et s'envolent.

Dans la République Argentine, les vols d'invasion apparaissent vers la fin d'août ou en septembre. Ils viennent du Nord (1), voyageant toujours de jour et se reposant de nuit. Les vols s'abattent sur les provinces de Corrientes, Entre-Rios, Chaco, Santa-Fe, Cordoba, la partie orientale de San Luis et de San Juan, plus rarement, et seulement quand le printemps est chaud, sur les provinces de Buenos-Aires et les territoires du Sud. Les sauterelles pondent dans ces provinces. Les jeunes éclosent pendant les mois d'octobre et de novembre, errent dans la contrée pendant la période de leur vie larvaire, prennent

(1) Inutile de rappeler que les saisons, dans la République Argentine, qui se trouve dans l'hémisphère sud, sont inverses de celles d'Europe; le printemps commence le 20 septembre, l'été le 21 décembre, l'automne le 20 mars et l'hiver le 21 juin.

les ailes pendant les mois de décembre et de janvier, se réunissent en vols fin janvier ou en février, et prennent une direction ouest ou nord-ouest. Comme je l'ai dit, les sauterelles arrivant du Nord forment des vols compacts, ressemblant de loin à de gros nuages sombres; par contre, en retournant au Nord ou à l'Ouest, les bandes sont en ordre dispersé et volent toujours de nuit; pendant leur premier et court voyage de l'Est à l'Ouest, elles se reposent de jour; quand elles gagnent ensuite définitivement le Nord, elles se reposent parfois également la journée, mais on observe aussi des vols de nuit qui se continuent de jour et, dans ce cas, les bandes sont à une très grande hauteur, indice que ces vols vont franchir une longue distance; on a remarqué que la hauteur du vol dans l'atmosphère est en relation avec la distance que les insectes désirent franchir sans arrêt.

La rapidité de déplacement des vols est très grande; on a noté avec certitude des distances de 150 kilomètres franchies en une seule nuit (1).

Arrivées dans les provinces occidentales, San Juan, San Luis, Tucuman, Santiago del Estero, Catamarca et La Rioja, les sauterelles nées dans les provinces orientales pondent une première fois, puis elles suivent leur route vers le Nord, pondent une seconde fois dans les provinces septentrionales : Salta, Jujuy et Chaco; les unes restent dans ces régions, où elles passent l'hiver; les autres poursuivent leur route en Bolivie et, sans doute, beaucoup plus loin; nous reviendrons sur cette question. Les œufs laissés éclosent environ un mois après la ponte; les criquets parcourent la région et, arrivés à l'état

(1) M. Kunckel d'Herculais (Le grand acridien migrateur américain, *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 25 mars 1901.) établit l'unicité de l'espèce migratrice américaine; à ceci rien à redire; mais, sur un point de sa Note, je suis en désaccord formel avec lui.

Le professeur Giard, en 1891, et S. Scudder, en 1899, admirent que *Schistocerca peregrina* Olivier, le grand acridien de l'ancien continent, est d'origine américaine; M. Kunckel d'Herculais s'élève contre cette opinion en se basant uniquement sur le fait que les *Schistocerca* ne volent, et même ne peuvent voler durant la nuit: « Ce n'est, dit-il, qu'aux heures les plus chaudes de la journée qu'ils s'élancent dans l'espace; dès 3 ou 4 heures du soir, alors que le soleil baisse sur l'horizon, ils se rapprochent du sol...; le soir, ils sont donc forcés d'atterrir. » Ceci est faux; comme je l'ai dit, quand les sauterelles regagnent le Nord, en février, mars et avril, elles volent toujours de nuit. Au Yucatan j'ai également observé souvent des vols de nuit, et là, quelle que soit l'époque de l'année, si les nuits sont chaudes, le vol de nuit est de règle.

adulte, partent également vers le Nord. Au printemps suivant, le cycle décrit recommence.

Les sauterelles qui envahissent la République de l'Uruguay, le Paraguay et le sud du Brésil proviennent des vols qui fondent sur la République Argentine; les jeunes sauterelles qui proviennent de leurs pontes vont également pondre dans les provinces occidentales de cette République et gagnent ensuite le Nord.

Bien des questions restent obscures dans la biologie des acridiens migrants. Trois de ces questions nous intéressent particulièrement, car elles sont étroitement liées au problème de la lutte contre la sauterelle.

Quelle est d'abord l'aire de l'extension de *Schistocera peregrina* dans l'ancien continent et de *Schistocerca americana* dans le nouveau? N'ayant observé personnellement que cette dernière espèce, d'elle seule je m'occuperai, mais, certainement, bien des constatations faites doivent s'appliquer aussi bien à l'une qu'à l'autre.

Si nous suivons la classification des entomologues américains, il existerait trente-trois espèces (1) appartenant au genre *Schistocerca*, espèces, les unes localisées dans une contrée, les autres s'entremêlant bizarrement entre elles sur toute l'étendue du continent, ce qui est assez étrange pour des espèces essentiellement migratrices (2). Au contraire, suivant les entomologues français, il n'existe qu'une seule espèce d'acridiens grands migrants en Amérique : *Schistocerca americana* Drury (3); tout semble leur donner raison et les arguments de M. Kunckel d'Herculais entre autres paraissent péremptoires. Personnellement, je puis apporter une contribution à cette étude; j'ai observé une grande variation chez les divers individus, criquets ou sauterelles, appartenant à une même bande, c'est-à-dire certainement de la même espèce, variations de

(1) *Biologica Centrali Americanæ*, pars « Entomology ».

(2) Pour donner une idée de la facilité avec laquelle les entomologues créent des espèces nouvelles, je citerai ce fait d'après M. Kunckel d'Herculais. Les *Schistocerca* jeunes adultes ont une teinte rosée, qui passe peu à peu au jaune en vieillissant, eh bien, Conil créa pour la première l'espèce *Schistocerca riojana*, pour la seconde *Sc. autumnalis*. Des erreurs de même nature sont probables pour les espèces de l'ancien continent.

(3) M. le professeur Bouvier tient également pour l'unicité.

teinte, de macules et de taille; j'ai trouvé des adultes qui ne mesuraient que 44 millimètres de long et d'autres qui allaient jusqu'à 76; j'en ai rencontré qui ne présentaient pas de macules, et dont la teinte était uniformément jaune clair, presque blanc. J'ai observé de plus qu'il existe en Amérique deux aires de dispersion de *Schistocerca americana*, sans communication entre elles, si ce n'est accidentellement; la première est constituée par toute l'Amérique du Sud, la seconde comprend les Etats du sud du Mexique, d'où partent parfois des vols qui vont s'abattre sur les Etats-Unis jusque dans l'Etat de l'Illinois. Ces deux aires sont séparées par les divers Etats de l'Amérique centrale où n'existent pas de *Schistocerca*; au Guatemala, jamais on n'a observé d'invasions depuis plus de trente ans, époque sur laquelle j'ai pu obtenir des renseignements précis et nombreux, ayant parcouru ce pays pendant près de trois ans.

Jusqu'où vont les jeunes sauterelles qui retournent vers le Nord? Second point obscur dans la biologie de ces insectes. On a parlé de foyers d'invasion ou de régions d'habitat permanent leur assignant une contrée déterminée, seulement on n'a jamais pu la trouver, ce qui ne devrait pas être bien difficile: l'espace où peuvent se loger et trouver leur nourriture les sauterelles qui ont couvert plus de trois millions de kilomètres carrés, comme cela est arrivé souvent dans la République Argentine, ne peut guère passer inaperçu (1). En réalité, ces foyers d'invasion n'existent pas, du moins avec le sens qu'on leur a attribué jusqu'ici. Me basant sur des faits qu'il serait trop long d'énumérer (2), j'ai montré qu'il était très probable que les *Schistocerca americana* vont et viennent sur toute l'étendue de l'Amérique du Sud, sur toute l'aire de l'extension de l'espèce. Suivant les vents régnants, les conditions climatiques, le régime des pluies, en un mot suivant les divers facteurs cosmiques, les vols se dirigent vers une région ou vers une autre. Si l'on veut conserver l'expression de région permanente, celle-ci serait constituée, en Amérique du Sud, par toutes les contrées où la température permet la vie de l'insecte pendant toute l'année, c'est-à-dire par toute la

(1) Même observation à faire en ce qui concerne l'Afrique.

(2) F. d'Hérelle, 1913, rapport au ministère de l'Agriculture de la République Argentine.

partie située au nord du trentième degré de latitude, qui comprend le nord de la République Argentine, la Bolivie, le Paraguay, presque tout le Brésil, l'Equateur, le Pérou, le Venezuela, la Colombie et la République de Panama. Il n'y a lieu de retrancher de ces régions que les contrées dont les conditions climatiques sont incompatibles avec la vie de l'insecte : les hautes régions andines et les vallées très humides des grands fleuves que les sauterelles évitent avec soin à cause des mycoses qui les y déciment.

La zone temporaire est constituée par le reste de l'Amérique du Sud, qui devient en été, grâce à l'élévation de température, appropriée aux besoins physiologiques de l'insecte.

Les sauterelles vont pondre dans les régions où la végétation est suffisante pour satisfaire la voracité des larves. Les larves ou criquets, une fois arrivées à l'état adulte, si elles se trouvent au sud du trentième degré de latitude, émigrent vers le Nord, si elles sont nées au Nord, donc dans une région où elles peuvent vivre toute l'année, y restent, séjournant parfois plusieurs mois au même endroit, ou parcourent la contrée en quête de nourriture.

Ici se place comme question accessoire celle de la périodicité des invasions. Cette question est restée jusqu'ici obscure parce que chaque pays s'est considéré comme une entité géographique définie, étudiant les invasions de sauterelles en faisant abstraction des pays voisins; on n'a pas centralisé les renseignements concernant les migrations, ce qui fait que le problème de la périodicité, si simple si on envisage un continent tout entier, devient insoluble si chaque pays le considère par rapport à lui seul. La classification erronée des *Schistocerca* n'était d'ailleurs pas faite pour éclaircir le problème, chaque pays croyant avoir à faire avec une espèce distincte de sauterelle (1). En réalité les *Schistocerca* vont et viennent sur toute l'étendue de l'Amérique du Sud; elles séjournent de préférence pendant quelques années dans les États du Nord, puis, après une année de sécheresse ou d'humidité trop prononcée,

(1) Il serait intéressant de vérifier sérieusement si les grands acridiens migrants de l'Afrique du Sud ne sont pas des *Schistocerca peregrina*; il serait alors vraisemblable que le nord et le sud de l'Afrique sont visités périodiquement par les mêmes insectes venant du Centre.

refluent en masse vers le Sud, où elles restent quelques années, pour recommencer après une année défavorable la migration en sens inverse. La périodicité des invasions n'est d'ailleurs pas marquée en Amérique comme elle l'est en Afrique (1); chaque année la République Argentine est envahie et la périodicité n'est ici qu'une question de plus ou de moins, et ne s'observe que pour les provinces méridionales, qui sont envahies si les chaleurs sont précoces et ne le sont pas si les mois d'août et de septembre sont froids; les insectes venant du Nord s'abattent alors uniquement sur les provinces septentrionales plus chaudes.

Troisième point obscur : que deviennent après la dernière ponte les sauterelles venues du Nord? Les entomologues ont une réponse très simple; elles meurent. Ce doit être faux, et voici pourquoi; on trouve bien parfois des cadavres sur les lieux de ponte, mais leur nombre est toujours infiniment moindre que celui des sauterelles qui se trouvaient sur les lieux de ponte le jour précédent, et de plus le fait est loin d'être constant. Si on examine avec soin les quelques cadavres restés sur place, on voit que la mort est due à des causes accidentelles : mycoses ou larves de *Sarcophaga*; la mort n'est donc pas alors physiologique. Un fait qui n'a jamais été signalé, je crois, prouve d'ailleurs que la femelle ne meurt pas fatalement après la dernière ponte: quand on observe les bandes de criquets, on trouve toujours, et cela sans aucune exception, quelques femelles adultes qui les accompagnent, qu'il s'agisse de criquets nés de pontes de vieilles sauterelles venues du Nord ou de jeunes sauterelles allant au Nord. Dans la République Argentine, on les nomme des « guías » ou guides. Elles restent sur les lieux après la ponte, alors que toutes leurs compagnes s'envolent, attendent les éclosions, suivent les bandes de criquets dans toutes leurs évolutions et s'envolent avec les jeunes sauterelles après la dernière mue. Quel est le rôle de ces « guides »? Servent-elles réellement de guides aux jeunes sauterelles? Je l'ignore, mais le fait est pos-

(1) En Algérie et dans le nord de l'Afrique, on observe une périodicité vraie; cela tient à ce que ces régions sont séparées par le Sahara, des contrées où l'insecte peut vivre toute l'année; les sauterelles, observant la loi du moindre effort, ne traversent cette barrière que si elles y sont forcées.

sible; on en observe de plus curieux que celui-là en étudiant la vie des insectes. En tous cas ce seul fait suffit à prouver que les sauterelles ne meurent pas fatalement après la dernière ponte dans la zone tempérée. Que deviennent-elles alors? Il est possible qu'une fois les pontes effectuées elles reprennent le chemin des régions tropicales, volant de nuit en vols dispersés, comme c'est la règle pour le retour, et que c'est là que se produit la mort physiologique de l'insecte (1).

A première vue, on pourrait considérer comme une digression tout ce qui vient d'être dit sur la biologie des acridiens migrateurs; il n'en est rien. Le problème de la lutte contre la sauterelle est complexe, et sans une connaissance approfondie des mœurs de cet insecte, on risque de courir à un échec complet. En ce qui concerne, par exemple, l'aire de dispersion de *Schistocerca peregrina* ou de *Schistocerca americana*, on comprend que, si cette aire est limitée, la lutte peut s'engager avec chance de réussite dans un seul pays : la République Argentine parvenant à réduire l'espèce *Schistocerca paranensis*, sera tranquille et n'aura rien à craindre de *Schistocerca bogotensis* Scudd., de Colombie, par exemple. Même si l'on tombe d'accord pour admettre l'unicité de l'espèce, l'aire de dispersion s'étend-elle sur toute l'Amérique du Sud, comme je l'ai soutenu, ou bien y a-t-il un foyer argentin, un foyer colombien, etc.? Si l'aire est limitée, la lutte peut s'engager avec chance de réussite dans un seul pays; mais si cette aire s'étend sur tout un continent il sera beaucoup plus avantageux, et le résultat désiré sera plus vite obtenu si la lutte s'engage en même temps dans tous les États qui se trouvent compris dans l'aire d'extension. Depuis deux ans des infestations ont lieu dans la République Argentine; si l'espèce contre laquelle on lutte a une aire limitée à ce seul pays, on pourrait espérer à bref délai réduire l'espèce à un point où elle ne causerait plus de

(1) Les choses se passent de même en Algérie pour *Stauronautus maroccanus*. A la question : que deviennent les adultes après la ponte? la réponse unanime est qu'ils meurent; si l'on insiste sur les circonstances, on obtient non moins unanimement les détails suivants : « Les sauterelles avaient pondu, elles se trouvaient tel jour dans tel champ, le lendemain matin plus de traces, pas de mortes sur le sol, mais s'il n'y avait plus de sauterelles, il était bien sûr qu'elles étaient mortes!!! » Il est plus logique de penser qu'elles s'envolent de nuit et qu'elles gagnent une autre région.

dégâts appréciables; mais si cette aire s'étend sur toute l'Amérique du Sud, les infestations qui ont lieu n'ont aucune répercussion sur les bandes immenses qui dévastent actuellement la Colombie et les autres Etats du Nord, et, malgré tout ce qu'elle aura fait, la République Argentine souffrira une invasion désastreuse quand ces masses d'insectes reflueront vers le Sud. Les infestations devraient donc avoir lieu sur toute l'aire de dispersion de l'insecte.

J'ai pris l'Amérique du Sud comme exemple, on pourra faire le même raisonnement pour tout autre continent qui souffre des invasions des acridiens migrants.

Lutte contre la sauterelle. — Depuis la plus haute antiquité, les peuples menacés ont cherché à se défendre, sans grand succès d'ailleurs, et ce n'est qu'en 1868 qu'un Italien résidant à Chypre, Riccardo Mattei, inventa un procédé de défense réellement efficace, l'appareil cypriote, qui se compose d'une bande de toile d'environ 80 centimètres de largeur, munie à sa partie supérieure d'un liséré de toile cirée d'une dizaine de centimètres; cette bande, de plusieurs kilomètres de longueur, est maintenue verticale au moyen de piquets fichés en terre; les criquets glissent sur la toile cirée et ne peuvent franchir l'obstacle; de place en place on creuse des fosses, les insectes s'y accumulent et on les détruit en les piétinant. Dans la République Argentine, on utilise dans le même but des feuilles de zinc de 40 centimètres de hauteur soudées bout à bout et maintenues verticales par des piquets de fer; on tend maintenant à remplacer les fosses par de simples enclos de quelques mètres carrés disposés tous les 50 mètres sur la ligne de barrière, et constitués également par de la feuille de zinc; les criquets suivent la barrière qu'ils ne peuvent franchir, arrivent au premier enclos, grimpent jusqu'au faite par une rampe spécialement disposée à cet effet, sautent dans l'enclos, d'où ils ne peuvent plus sortir, et meurent étouffés par les masses de criquets qui viennent s'y accumuler. Cette disposition très simple, due à l'ingéniosité de M. Tribodi, inspecteur au ministère de l'Agriculture de la République Argentine, dispense de faire des fosses, toujours coûteuses à établir, et de plus offre l'immense avantage de permettre l'établissement très rapide des lignes de barrière avec une main-d'œuvre réduite au

minimum, ce qui est particulièrement important dans les conditions où l'on est obligé de travailler. Le Gouvernement argentin possède plus de 30.000 kilomètres de ces barrières de zinc. Pour donner une idée du nombre des sauterelles dans les régions envahies, il suffira de dire qu'au moyen de l'appareil qui vient d'être décrit, pendant la campagne de 1908, il fut capturé et détruit 111.747.000 kilogrammes de criquets, ce qui fait plus de cent milliards d'individus, plus 13.385.000 kilogrammes de criquets « mouches », soit environ trois cent milliards; si on ajoute à ce chiffre les œufs, nous arrivons à un total de sept cent milliards, et, malgré cela, suivant les mêmes inspecteurs d'agriculture qui dirigeaient la lutte, c'était absolument comme si on n'avait rien fait, il paraissait y en avoir autant après qu'avant.

Somme toute, l'appareil cypriste est excellent pour protéger les cultures: une ceinture autour d'un champ sauve la récolte; comme moyen de destruction il est inefficace, et les criquets qui échappent à la destruction sont plus que cent fois suffisants pour que la prochaine génération soit aussi nombreuse que la précédente (1). Il faut ajouter que son emploi est impraticable dans les régions incultes et dépourvues de moyens de communications faciles, et que s'il est utile pour la lutte contre le criquet, il ne sert à rien contre la sauterelle adulte ailée: pour celle-là, rien à faire, si ce n'est de la ramasser pour la détruire ensuite, ce qui n'est pas facile et nul quant au résultat.

Le feu, les insecticides les plus divers (2), les machines les plus compliquées ont été proposés tour à tour, jusqu'à d'immenses filets tendus dans l'atmosphère et remorqués par des ballons ou de gigantesques machines électriques destinées à

(1) J'ai vu en Algérie de la barrière de zinc de 25 centimètres de hauteur; il est absolument inutile de se donner la peine d'établir une telle ligne de barrage; les criquets, surtout de *Stauronautus maroccanus*, sautent facilement par-dessus, d'autant plus qu'elle est toujours légèrement inclinée.

(2) Dans l'Afrique du Sud, on a employé la mélasse additionnée d'acide arsénieux, et j'ai vu de nombreux catalogues distribués par des fabriques de produits chimiques préconisant l'emploi de l'arsenic sous diverses formes. Ces pratiques sont déplorables, car si on empoisonne ainsi une certaine quantité de criquets, on empoisonne également les oiseaux insectivores qui en auraient détruit encore bien plus, et l'on se prive de ces précieux auxiliaires dont l'absence se fera cruellement sentir dans un avenir prochain. Il a été prouvé, en particulier, que la quasi-disparition des cigognes, autrefois si nombreuses en Alsace, était due au fait qu'elles étaient mortes

foudroyer les vols (Edison) (1) rien à faire devant la multitude des envahisseurs, et les pays qui ont employé ces procédés de la manière la plus intensive ne sont jamais arrivés à réduire en quoi que ce soit les invasions suivantes, ce qui est bien la condamnation formelle de leur emploi. Si encore la lutte se poursuivait dans des pays très peuplés, entièrement cultivés, il est fort possible que tous ces moyens finiraient par donner un résultat, mais il faut penser que les pays qui souffrent le plus des invasions des sauterelles sont des contrées à faible population, où il existe d'immenses étendues désertes et incultes où les sauterelles se reproduisent tout à leur aise, et chaque femelle pondant des centaines d'œufs, on comprend que, même en supposant que l'on puisse détruire la moitié des sauterelles qui constituent une invasion, ce qui ne sera jamais le cas, on ne réduira en rien l'invasion de l'année suivante.

Je tiens à faire remarquer ici, pour éviter toute équivoque, que l'emploi de l'appareil cypriste est de toute nécessité dans les régions agricoles envahies, même quand la lutte s'engage avec des procédés biologiques. On comprendra aisément que si nous infestons des criquets qui vont envahir un champ, l'épizootie ne se répandra pas instantanément et ne tuera pas les insectes d'une manière foudroyante : avant que l'épizootie ait anéanti les criquets, il se passera quelques jours pendant lesquels tout ce qu'il y a sur le champ aura le temps d'être dévoré. La protection mécanique est donc nécessaire. Il va sans dire que dans les régions incultes, cette protection n'a plus de raisons d'être et que les procédés biologiques seuls sont suffisants.

Les moyens de protection, de lutte défensive sont donc utiles, mais la lutte doit se recommencer chaque année; il est de beaucoup préférable d'engager en même temps une lutte offensive pour arriver non pas à détruire l'espèce, ce qui sera

après avoir mangé des criquets au Transvaal. Inutile de dire qu'on a eu à déplorer de nombreux cas d'empoisonnement du bétail dans les pays qui ont employé ce procédé. Dans la République Argentine il a été essayé, il y a quelques années, les résultats ont été nuls; il aurait fallu employer des centaines de milliers de tonnes d'acide arsénieux pour obtenir une mortalité appréciable : seulement tout le bétail y serait passé en même temps.

(1) La licence d'emploi du procédé pour la République Argentine avait été offerte moyennant la somme de vingt millions de dollars, soit cent millions de francs; ce qui ne fut d'ailleurs pas accepté.

toujours impossible, mais à réduire le nombre des insectes envahisseurs à un point tel que les dégâts causés puissent être considérés comme négligeables. Ce n'est qu'à l'aide d'un procédé biologique que l'on peut espérer arriver à un tel résultat, et l'agent à mettre en œuvre doit être un ennemi naturel de la sauterelle.

Ennemis naturels de la sauterelle. — Comme il est facile de le prévoir, des insectes se réunissant en bandes innombrables doivent avoir des ennemis nombreux durant toutes les périodes de leur existence.

Des mouches appartenant au genre *Anthrax* et *Idia*, et des coléoptères, les *Milabres*, pondent leurs œufs sur les œufs des acridiens et leurs larves s'en nourrissent.

Des champignons parasites envahissent parfois les lieux de pontes pendant les années humides et malgré le soin qu'ont les sauterelles de toujours choisir des endroits secs. On peut signaler *Isaria destructor* Metchnikoff; *Isaria ophioglossoides* Krassil'tchik; M. le professeur Metchnikoff le premier a réalisé la culture en grand des champignons parasites en vue de la production des spores qu'il appliqua à la destruction d'un insecte : *Cleorus punctiventris*, parasite de la betterave en Russie.

Le criquet et la sauterelle adulte sont également pourchassés par un grand nombre d'ennemis : les oiseaux en détruisent une grande quantité, et les migrations de plusieurs espèces sont principalement dues au fait qu'elles se dirigent vers les contrées envahies par les acridiens. Les cigognes d'Europe, par exemple, vont se gaver de sauterelles jusqu'au Transvaal et dans la Colonie du Cap; les cailles vont, dans le même but, dans l'Afrique du Nord, principalement en Egypte. J'ai vu des bandes considérables de mouettes remonter dans l'intérieur des terres à plus de huit cents kilomètres et faire la chasse aux criquets.

De nombreux insectes pondent leurs œufs ou déposent leurs larves sur le corps des criquets et des sauterelles. Les plus importants appartiennent au genre *Sarcophaga*, qu'on rencontre sans exception dans toutes les contrées envahies par les acridiens, et l'on trouve presque toujours dans les bandes de criquets quelques individus porteurs de larves de cette mouche.

Plusieurs champignons parasites des acridiens ont été décrits : *Entomophthora grylli* Fresenius ; *Entomophthora calopteni* Bessey ; *Entomophthora calliphoræ* Giard ; *Lachnidium acridiorum* Giard ; *Mucor exitiosus* Massee.

Enfin un bacille, *Coccobacillus acridiorum*, agent d'une épizootie au Mexique, et que nous étudierons en détail.

L'élevage ou la culture de plusieurs de ces ennemis naturels ont été, à plusieurs reprises, proposés pour lutter contre les acridiens.

En 1867, on tenta l'introduction en Algérie du martin triste de l'Inde (*Acridothores tristis*), sans résultat : les pauvres Oiseaux moururent avant de s'acclimater.

On a proposé en Algérie l'élevage des *Idia* et en Argentine celui des *Sarcophaga* : inutile de dire que ces propositions émanaient de personnes étrangères à l'entomologie. Une simple réflexion aurait suffi pour convaincre les auteurs de l'impossibilité de tels procédés : il leur aurait suffi de calculer le nombre de mouches à élever pour pouvoir arriver à un commencement de résultat pratique ; ils auraient de plus, pour les *Sarcophaga*, dû savoir que le parasitisme de cette mouche est très étroit, les larves se développant uniquement, non seulement dans le corps de l'acridien vivant, mais encore dans une seule espèce d'acridien : les *sarcophaga* sont des parasites obligés, ce qui rend l'élevage impossible. Acclimater l'espèce où elle fait défaut est inutile ; il est impossible de trouver une région où vivent des acridiens, quelle que soit l'espèce, sans trouver des *Sarcophaga*. Comment se fait-il que ces mouches parasites n'aient pas, je ne dirai pas anéanti les acridiens, mais au moins diminué leur nombre ? C'est qu'à leur tour, elles sont limitées par le parasitisme de diverses espèces de très petites guêpes appartenant au genre *Chalcis*, extrêmement abondantes dans les régions habitées par les *Sarcophaga*.

De nombreux savants ont proposé la culture des champignons parasites de manière à créer des épizooties chez les acridiens : Herbert Osborne en 1883, aux Etats-Unis, avec *Entomophthora Calopteni* Bessey ; M. le professeur Metchnikoff, en Russie, avec *Isaria destructor* Metchnikoff ; Laboulbène et Charles Brongniart, en France, avec *Entomophthora calliphoræ* Giard et *Lachnidium acridiorum* Giard ; W. Cooper

dans la Colonie du Cap, avec *Mucor exitiosus* Massee; ce dernier parasite a été essayé aux Etats-Unis et dans la République Argentine; les résultats ont été nuls. Les champignons ont besoin, pour se développer, de circonstances favorisant spécialement dont les principales sont la chaleur et l'humidité; une variation de quelques degrés en plus ou en moins empêche le développement; quant à l'humidité, j'ai déjà fait noter avec quel soin les sauterelles évitent les régions humides, qui seraient précisément les seules où l'emploi des champignons aurait des chances de réussite, et elles les évitent certainement pour se mettre à l'abri des épizooties de nature mycosique qui les déciment aussitôt que par hasard elles s'y aventurent. En un mot, si les sauterelles fréquentaient les endroits propices à l'éclosion des mycoses, il serait inutile de provoquer des épizooties, elles se développeraient naturellement d'elles-mêmes.

Restent les épizooties de nature bactérienne : contrairement à ce qui existe pour les champignons, les bactéries vivant à l'intérieur de l'être parasité trouvent toujours un milieu de culture favorable; leur rapide multiplication en fait les facteurs des plus redoutables épizooties, c'est aussi vrai pour les insectes que pour les mammifères.

II

LE COCCOBACILLE DES SAUTERELLES

Origine. — Le coccobacille agent de l'épizootie des sauterelles a été découvert au Mexique, dans l'état du Yucatan. En 1909, une certaine mortalité avait été signalée dans les vols qui arrivent du sud de l'Etat, des confins du Guatemala, région où ils passent l'hiver; l'année suivante, l'épizootie s'était généralisée et sévissait sur un très grand nombre de bandes, enfin, en 1911, les quelques vols qui firent leur apparition étaient tous attaqués et, en 1912, il n'y eut pas d'invasion (1).

(1) F. D'HERELLE, Sur une épizootie de nature bactérienne sévissant sur les sauterelles au Mexique. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLII, p. 1443, 1911.

Dans cette première note, j'indiquais que l'acridien atteint était *Schistocerca pallens*, et cela d'après la nomenclature de *Biologia Centrali Americanae*, pars « Entomology ». Depuis, j'ai eu connaissance de la note déjà

Symptômes. — Les sauterelles atteintes de la maladie naturelle, de même que celles qui sont inoculées ou contaminées expérimentalement *per os*, présentent des symptômes identiques. Après un temps d'incubation (qui varie de une à quarante-huit heures, suivant la virulence du coccobacille, la résistance individuelle de l'insecte, les circonstances cosmiques), on observe que le contenu du ventricule chylique (qui tient lieu d'estomac) se liquéfie, prend une couleur noirâtre et un aspect assez semblable à celui du sang coagulé. A ce moment, la sauterelle cesse de manger, présente un aspect flasque, elle saute mal et se met à l'abri dans les touffes d'herbe. Le contenu intestinal se liquéfie à son tour : d'abord de couleur jaune clair, il fonce peu à peu jusqu'à prendre une couleur noirâtre ; à ce moment une légère pression sur l'abdomen fait sourdre par l'anus une gouttelette de ce liquide, la diarrhée caractéristique se déclare alors, l'insecte souille les feuilles de ses déjections ; quelques heures après, la sauterelle tombe sur le côté, les pattes sauteuses sont agitées par intervalle de brusques contractions ; cet état comateux se prolonge plus ou moins longtemps, de quelques minutes à quelques heures, puis la mort survient.

Quand la virulence du coccobacille est très exaltée et capable de provoquer la mort en quelques heures, on trouve de nombreuses sauterelles dont le contenu du ventricule chylique seul présente le noircissement caractéristique : la mort survient avant que le contenu intestinal ait subi une modification.

Après la mort, le cadavre de l'insecte se putréfie très rapidement, les téguments prennent une couleur foncée.

Le contenu intestinal des sauterelles saines est pauvre en bactéries, parfois aseptique. Parmi les saprophytes que l'on rencontre, le plus commun est un coccobacille prenant le Gram, mobile ; en l'injectant à dose massive, j'ai pu provoquer la mort des sauterelles, mais j'ai toujours échoué par ingestion. Il communique aux sauterelles une odeur désagréable.

citée de M. Kunkel d'Herculais établissant l'unicité de l'espèce *Schistocerca* : les faits que j'ai pu observer sont tous en faveur de la thèse de ce savant ; l'acridien sur lequel j'ai observé l'épizootie du Yucatan était, en réalité, *Schistocerca americana* Drury.

qui permettrait de le reconnaître si on l'avait isolé par erreur au lieu du coccobacille spécifique. On trouve parfois des staphylocoques, rarement le subtilis.

Dans le contenu intestinal des sauterelles atteintes de la maladie, on observe une quantité innombrable de coccobacil-

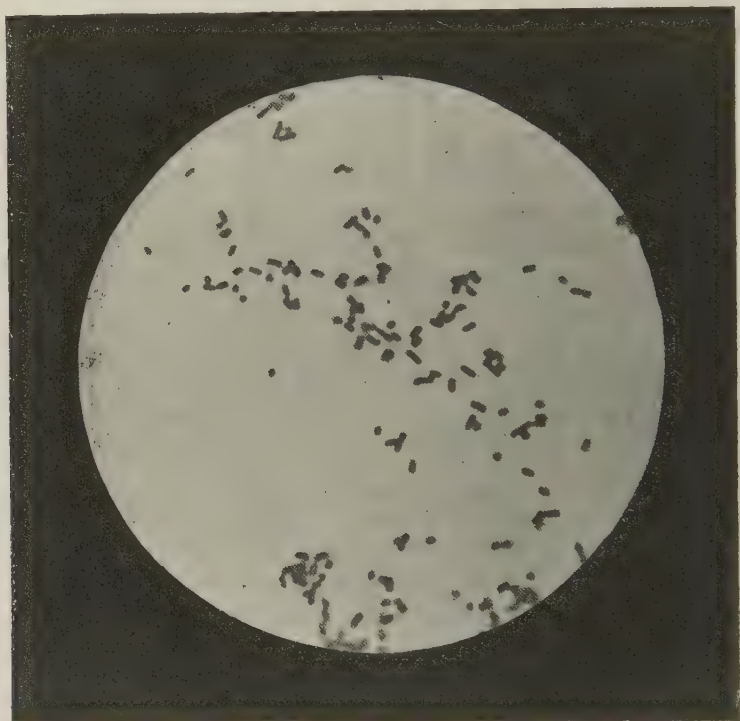


FIG. 2. — *Coccobacillus acridiorum*, contenu intestinal d'une sauterelle morte dans un champ après infection.

les : au microscope, l'aspect est celui d'une culture pure (fig. 2); par isolement, on ne trouve souvent pas un saprophyte pour cent bacilles spécifiques, ce qui rend ces isollements très simples.

En faisant des frottis ou des coupes des diverses parties du corps des sauterelles mortes sous l'action du coccobacille, on constate que tous les tissus sont envahis par le microbe. En même temps qu'une action sur le tube digestif, il se produit

donc une véritable septicémie, le sang fournit une cellule pure.

Caractères du coccobacille (fig. 3). — Le microbe de l'épizootie des sauterelles est un bacille court, légèrement ovoïde, très polymorphe ; dans une même culture, on rencontre des formes

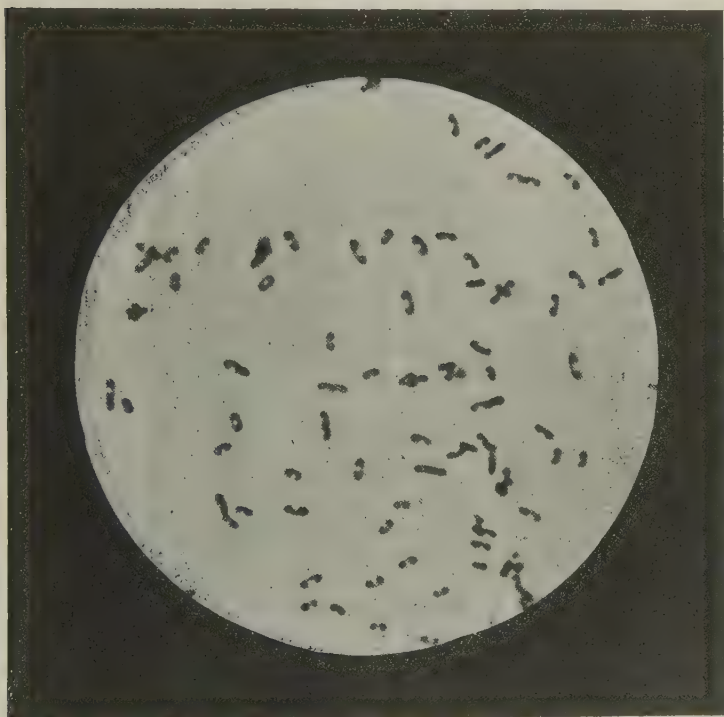


FIG. 3. — *Coccobacillus acridiorum*, culture jeune.
(Coloration : 1 seconde au Ziehl.)

coccus de $0,6 \mu$ environ à côté de formes nettement bacillaires de $0,4 \mu$ - $0,6 \mu$ par $0,9 \mu$ - $1,5 \mu$. Très mobile, porte des cils sur toute la périphérie. Ne prend pas le Gram et se colore facilement par les couleurs d'aniline.

En culture jeune et dans l'intestin des sauterelles, on ne trouve guère que les formes nettement coccobacillaires : le microbe se colore alors plus fortement aux pôles, surtout si on le colore au Ziehl pur pendant une à deux secondes.

Anaérobie facultatif. Donne des cultures de 16 à 43 degrés dans tous les milieux usuels, même en milieu Raulin. Il se développe très rapidement; à 37 degrés en bouillon, le trouble apparaît dès la quatrième heure. Donne après quelques jours un très léger voile sans éclaircissement du bouillon, qui

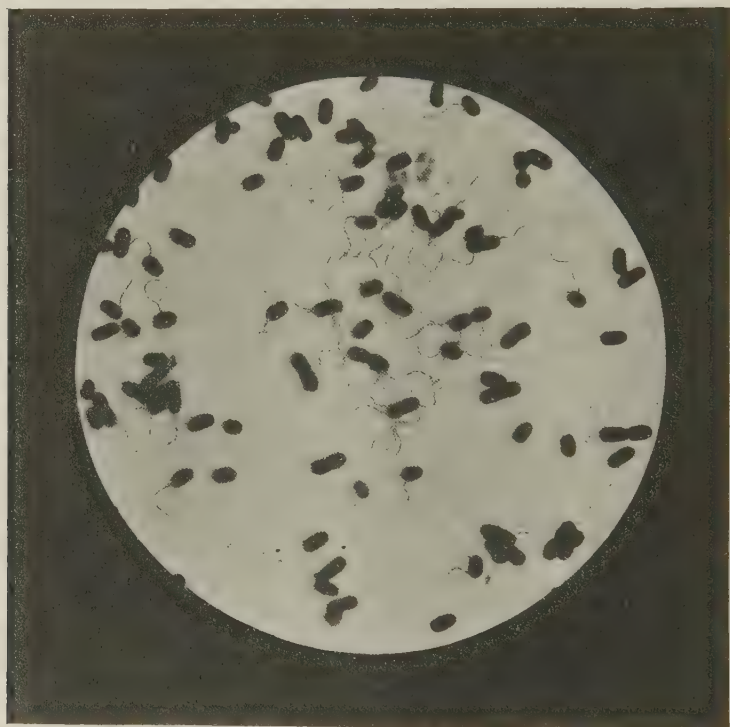


FIG. 4. — *Coccobacillus acridiorum*, cils.
(Coloration; encre de Löffler et Ziehl.)

ne se produit qu'après trois semaines, avec dépôt boueux. Une culture jeune, agitée, produit des ondes soyeuses. L'odeur des cultures rappelle celle du bouillon Liebig concentré.

Sur gélose, les jeunes colonies sont circulaires et ont un aspect circux. Les colonies sont très visibles après douze heures, après dix-huit elles ont 2 à 3 millimètres de diamètre. En profondeur, petites colonies sphériques, blanchâtres, opaques.

Ne liquéfie pas la gélatine. Coagule le lait, qu'il rend fortement alcalin.

Donne une culture très abondante sur pomme de terre, d'aspect crémeux; la culture dans l'eau de condensation qui se trouve au fond du tube, est tellement dense que le liquide devient sirupeux, à réaction fortement alcaline.

Le coccobacille pousse faiblement dans un bouillon alcalinisé à 2 grammes de soude par litre, normalement avec un demi-gramme. Il végète faiblement dans un bouillon additionné de 1 cent. cube d'acide chlorhydrique par litre ($D=1,180$), normalement avec un demi-cent. cube, et dans ce cas il alcalinise peu à peu ce milieu. Dans de vieilles cultures, on trouve une alcalinité telle qu'il faut environ 2 grammes d'acide sulfurique par litre pour la neutralité. Cette alcalinité est due à de l'ammoniaque; le dégagement est assez fort pour bleuir un papier de tournesol rouge humecté présenté à l'orifice du tube de culture.

Il fermente le glucose, le lévulose, le maltose, le galactose : ensemencé dans un milieu contenant l'un de ces sucres, la réaction du milieu devient rapidement légèrement acide, puis revient en peu de temps à l'alcalinité.

Il ne liquéfie pas la gélatine. Dans la première Note, déjà citée, j'indiquais que la gélatine était liquéfiée après plusieurs jours; j'avais commis une erreur, compréhensible d'ailleurs si l'on pense que j'avais fait cette expérience au Yucatan, l'un des pays les plus chauds du globe.

III

APPLICATION DU COCCOBACILLE DES SAUTERELLES A LA LUTTE CONTRE CET INSECTE

La mortalité considérable observée sur les vols de sauterelles où sévissait l'épizootie au Yucatan, le fait que cette épizootie se propageait rapidement de vol à vol et se continuait jusqu'à extinction totale me donna naturellement l'idée d'essayer de propager cette maladie dans d'autres régions ayant à souffrir du fléau des sauterelles.

Ayant eu connaissance de la Note parue aux *Comptes rendus*, le gouvernement de la République Argentine me chargea d'une mission à l'effet d'étudier l'action du virus sur les saurelles qui envahissaient régulièrement une grande étendue de ce pays, et de tenter la propagation de l'épizootie pour arriver, non pas à détruire l'espèce, ce qui est une impossibilité, mais à réduire le nombre des envahisseurs à un point tel que les dégâts causés fussent insignifiants. Les premières infestations eurent lieu en janvier 1912 et se continuèrent jusqu'en mai : elles reprirent de décembre à avril 1913. Dans la suite de ce mémoire, je décrirai les études entreprises et les résultats obtenus : ces observations pourront être utiles à ceux qui voudraient employer ce procédé dans d'autres régions. Je passerai successivement en revue les diverses questions qui se posent, en insistant surtout sur le côté pratique, le plus important ici, car on sera le plus souvent appelé à opérer dans des régions désertes, loin de tout centre, avec pour matériel un fil de platine, une lampe à alcool et quelques tubes, ce qui obligera à choisir des méthodes demandant un matériel réduit au strict minimum ; il faudra de plus que ces méthodes permettent d'aller rapidement en besogne, car on est à la merci d'événements que l'on ne peut modifier : quand les criquets naissent, il faut être prêt ; quand un vol de sauterelles adultes s'abat, il faut pouvoir l'infester sans retard (le lendemain il sera sans doute parti), et cela avec un microbe dont la virulence est fugace. Tout contribue à créer des difficultés qu'ignorent ceux qui travaillent dans un laboratoire bien pourvu d'instruments et expérimentent à l'heure qu'ils se sont fixée d'avance. Ajouterai-je qu'un bactériologiste qui voudra mener à bien la mission qu'on lui aura confiée ne devra pas ménager ses peines, devra pouvoir endurer la fatigue, passer ses journées à cheval et dormir où le hasard de la poursuite le conduira le soir ? S'il n'est pas disposé d'avance à tout faire par lui-même : exaltation et conservation de la virulence, recherche des colonies et des vols qu'on lui aura signalés, infestations et vérification des résultats, il est inutile qu'il commence, il court à un échec certain : le seul travail bien fait est celui qu'on fait soi-même.

Vitalité et virulence. — La vitalité du coccobacille des sau-

terelles est considérable : en tubes scellés, le microbe a été trouvé vivant après deux ans de conservation à la température ordinaire ; par contre, la virulence baisse très rapidement, et pour obtenir un résultat dans l'application à la destruction des sauterelles, il est absolument indispensable de n'employer pour les infestations que des bacilles exaltés suivant la technique qui sera donnée, sous peine d'un échec certain. Un virus atténué peut immuniser la sauterelle et la rendre réfractaire même pour un coccobacille à son maximum d'exaltation appliqué ensuite.

Exaltation de la virulence. — L'exaltation de la virulence s'obtient par passages successifs par l'organisme de la sauterelle.

Ensemencer le coccobacille en bouillon peptonisé ordinaire. Cultiver à la température ambiante : il faudra avoir soin de ne jamais placer les cultures à l'étuve à cause de la rapide atténuation qui se produit à cette température. Aussitôt que le bouillon présente un trouble manifeste, soit après dix à dix-huit heures, suivant la température ambiante, inoculer une première série de sauterelles avec cette culture.

On peut également ouvrir le tube de gélose où l'on a conservé le virus, y verser 1 ou 2 cent. cubes de bouillon ou d'eau stérile et injecter directement avec ce liquide la première série ; en tous cas, on aura soin de repiquer auparavant sur gélose de manière à parer à toute éventualité, surtout si l'on n'a qu'un seul tube de culture.

A titre d'exemple : le 4 août 1910, au Yucatan, j'isole le coccobacille du contenu intestinal d'une sauterelle atteinte de maladie naturelle ; repiquage le 6 août sur gélose ; second repiquage sur gélose, à Paris, le 4 juin 1911. Le 17 janvier 1913, à Reconquista (République Argentine), j'ouvre le tube, qui avait par conséquent plus de seize mois ; j'émulsionne la couche microbienne dans 2 cent. cubes d'eau et j'injecte de suite, à douze sauterelles, une goutte à chacune. Vingt-deux heures après l'injection, une morte, deux heures après une seconde, une heure plus tard deux autres ; examinées à ce moment, toutes les survivantes présentaient la diarrhée caractéristique et moururent pendant les dix heures qui suivirent. La même émulsion administrée *per os* à douze sauterelles ne produisit

aucun résultat ; si la culture était très vieille, on ferait bien de la rajeunir par un passage en bouillon avant de commencer les injections.

On peut inoculer des sauterelles ou des criquets. Quand il s'agit de *Schistocerca*, le temps d'incubation étant court, on a tout intérêt à se procurer des adultes lors des pontes et à s'en servir pour exalter la virulence et l'entretenir pendant le temps que dure l'incubation : on aura ainsi un virus à son maximum d'exaltation au moment des éclosions. En tous cas, si l'on doit opérer avec des criquets, on aura soin de se procurer les plus gros possible pour faciliter les manipulations, quoique, avec un peu de pratique, on puisse arriver à faire des passages en employant des criquets récemment éclos. Une très fine pipette est alors plus commode que la seringue.

Pour inoculer un criquet ou une sauterelle, saisir l'insecte avec la main gauche, la face ventrale tournée vers l'opérateur, enfoncer l'aiguille de la seringue entre les deuxième et troisième segments antérieurs de l'abdomen, au point d'intersection avec l'un des sillons longitudinaux : enfoncer l'aiguille horizontalement dans la direction de la tête, comme s'il s'agissait d'une injection hypodermique, à une profondeur de 3 millimètres environ pour un insecte adulte, un peu moins pour un jeune criquet. En tous cas, il faut enfoncer l'aiguille à une profondeur suffisante pour que la goutte soit bien injectée dans la cavité abdominale, et non pas seulement sous le recouvrement de plaque tégumentaire, car l'effet serait naturellement nul, et pas trop profondément, de manière à ne léser aucun organe.

Les aiguilles doivent être très fines et très acérées. On peut également employer une fine pipette coudée.

Injecter une ou deux gouttes de liquide. Inoculer de même une douzaine de sauterelles ou de criquets. Si un ou plusieurs insectes mouraient dans les deux heures qui suivent l'injection, il faudrait les éliminer, car la mort serait due à un traumatisme souffert pendant l'injection : le cas ne se présente jamais quand l'opération est bien faite.

Les symptômes ont déjà été décrits. Aussitôt que les insectes de cette première série sont morts, ou mieux encore agonisants, presser entre les doigts l'abdomen de manière à faire

sourdre par l'anus le liquide noirâtre qui remplit la cavité abdominale que l'on recueille dans un verre de montre. Injecter une goutte de ce liquide dans la cavité abdominale de chacune des douze sauterelles ou criquets qui formeront la série, en suivant la même technique et en observant les mêmes précautions que pour ceux de la première série. Ces insectes mourront dans un laps de temps moindre que les précédents.

Prélever dans un verre de montre le liquide intestinal des trois ou quatre premières mortes de cette seconde série, le diluer avec moitié d'eau et de bouillon stérile, et inoculer, toujours de la même manière, une troisième série.

Faire une quatrième série avec le liquide intestinal des premières mortes de la troisième, dilué au tiers, une cinquième avec le liquide de la quatrième dilué au quart, et continuer de même les séries. Après la onzième série, que l'on inocule avec le liquide intestinal de la dixième dilué au dixième, continuer les séries suivantes, toujours avec du liquide de la série précédente dilué au dixième : il est d'ailleurs exceptionnel que l'on ait besoin de dépasser la douzième série.

On peut considérer la virulence du coccobacille comme suffisamment exaltée quand la mort survient huit heures après l'injection.

Un virus à son maximum d'exaltation injecté à une sauterelle à la dose de 1/100 de cent. cube produit la diarrhée caractéristique en deux heures et la mort une heure plus tard ; cette virulence maximum ne peut être obtenue que difficilement par passage au laboratoire ; elle ne s'obtient guère que par isolement du coccobacille du contenu intestinal de sauterelles mortes dans les champs quelques jours après l'infestation des bandes.

J'ai dit plus haut qu'il était rare qu'on soit obligé de faire plus de douze passages pour arriver à une virulence suffisante, du moins quand on s'adresse à un virus ayant déjà été exalté pour l'espèce sur laquelle on veut agir. Lors des premiers essais dans la République Argentine, en janvier 1912, le coccobacille provenant de l'épizootie du Mexique était en culture depuis quatorze mois, et avait subi cinq réensemencements :

la virulence a été suffisamment exaltée après onze passages, qui demandèrent cinq jours. Lors des infestations dans la province de La Rioja, en avril de la même année, les cultures n'étaient pas passées par sauterelles depuis deux mois et avaient subi trois réensemencements; quatre passages ont suffi. En décembre 1912, pour infester la région de Rafaëla, les cultures provenaient de sauterelles mortes à La Rioja; elles avaient sept mois de cultures et trois réensemencements; il a fallu six passages pour obtenir une virulence satisfaisante.

Quand l'acridien que l'on veut contaminer est d'une espèce différente de celle pour laquelle le coccobacille a été précédemment exalté, un grand nombre de passages peuvent être nécessaires, et j'attire spécialement l'attention des expérimentateurs sur ce fait. En Algérie, le Dr Sergent, en parlant du coccobacille primitif de l'épizootie du Yucatan que je lui avais envoyé, dut pratiquer cinquante-deux passages par *Stauronautus maroccanus* pour arriver à tuer en huit heures: par contre, à Chypre, également pour *Stauronautus maroccanus*, M. W. Francis obtint une virulence suffisante après douze passages.

Quand on aura à expérimenter sur une espèce nouvelle, il sera utile de faire les premières inoculations sur un grand nombre de criquets ou de sauterelles, on aura ainsi plus de chances de trouver des insectes qui, pour une cause quelconque, seront plus sensibles que les autres. On pourrait aussi prendre, pour les premiers passages, des insectes affaiblis par un jeûne de quelques jours, de manière à réduire leur résistance naturelle. Tant que l'on n'aura pas atteint une virulence capable de tuer en une quinzaine d'heures, on ne devra pas diluer le contenu intestinal pour faire les injections, mais l'employer pur.

Un virus exalté pour une espèce de sauterelle ne l'est pas pour une autre: par exemple, une exaltation maxima pour *Schistocerca americana* ne l'est pas pour *Caloptenus* sp.? du sud de la République Argentine et *vice versa*. A titre d'exemple, je citerai l'expérience suivante: un coccobacille tuant, par injection de 1/20 de cent. cube, un criquet de *Schistocerca* en huit heures, ne produisait la mort de *Caloptenus* à la même dose qu'en vingt-huit heures; après plusieurs passages par

ce dernier insecte, il parvenait à le tuer en quatre heures par injection et en neuf heures *per os*. Reporté sur *Schistocerca*, il ne provoquait la mort qu'en vingt heures par injection et ne tuait plus *per os*; il fallut plusieurs passages pour lui faire récupérer sa virulence primitive pour cette espèce (1).

Les bactériologistes chargés des infestations d'une espèce nouvelle d'acridiens ne doivent donc pas se décourager quand la mort des insectes traîne en longueur lors des premiers passages, ils n'ont qu'à continuer et se souvenir des cinquante-deux passages qui ont été nécessaires pour obtenir une virulence suffisante pour *Stauro-nautus maroccanus* en Algérie.

Une modification a été apportée à la technique que je viens de décrire par le D^r Sergent (2), en Algérie, et en même temps par le D^r Zea Urribe, en Colombie : entre chaque passage par sauterelle ils intercalent une culture en bouillon du contenu intestinal : la première série est infectée avec une culture en bouillon ; avec une anse du contenu intestinal de la première sauterelle morte, onensemence un tube de bouillon et de gélose ; quand la culture est suffisamment développée, on s'en sert pour injecter une seconde série de sauterelles, et ainsi de suite. On pourrait essayer cette méthode d'exaltation (assez semblable d'ailleurs à celle qui a été proposée par Haffkine pour le vibrion cholérique) si on éprouvait quelques difficultés en se servant du procédé que j'ai indiqué ; je ne crois pourtant pas cette modification nécessaire, car le D^r Harris, à Chypre, opérant sur *Stauro-nautus maroccanus* tout comme le D^r Sergent, en Algérie, a pu exalter convenablement la virulence par douze passages simples ; en Colombie, le D^r Lleras me paraît également avoir obtenu un virus plutôt plus actif que celui du D^r Zea Urribe, quoiqu'il n'ait employé que la méthode des passages simples. Somme toute, la modification présentera peut-être des avantages dans certaines conditions.

Quand la virulence est suffisamment exaltée, prélever de la première sauterelle agonisante de la dernière série une trace

(1) Il résulte de tout ceci que, la virulence ayant été rapidement exaltée pour le *Schistocerca* de la République Argentine, le *Schistocerca* du Mexique d'où provenait le coccobacille devait être de la même espèce, ce qui est un argument de plus en faveur de l'unicité de l'espèce.

(2) [Voir, dans les *Annales* d'avril 1944, le Mémoire du D^r Sergent.]

du contenu intestinal au moyen d'un fil de platine, et faire un isolement sur gélose inclinée, ou, si l'on préfère, en boîte de Petri. Cultiver à la température de la chambre. Après vingt-quatre, trente-six heures, les colonies sont suffisamment développées pour pouvoir être soit repiquées sur gélose, si l'on veut simplement conserver le virus, soit ensemencées directement en bouillon qui servira aux infestations.

Ensemencements des bouillons. — Le bactériologiste devra toujours avoir présent à la mémoire que la virulence du coccobacille baisse très rapidement en culture, et s'atténue également d'une façon très sensible par repiquage; pour ces raisons, il est absolument indispensable d'ensemencer les bouillons destinés aux infestations avec un coccobacille :

1° Qui a subi le moins de repiquages possibles. Ce résultat est obtenu en prélevant la semence directement sur les tubes ayant servi à faire l'isolement, ou sur les boîtes de Petri, si on a choisi ce moyen pratique, vu les conditions où on est appelé à opérer ;

2° Qui vient de sortir de l'organisme de la sauterelle. Comme la campagne d'infestation peut durer plusieurs mois, si les régions envahies sont étendues, il faut continuer la série des passages pendant toute la durée de la campagne, de manière à avoir toujours sous la main un virus au maximum d'exaltation et ne pas être forcé d'employer une semence depuis plusieurs jours en culture.

J'indiquerai plus loin une autre méthode d'obtention d'un virus exalté au cours d'une campagne.

Je recommande tout spécialement aux bactériologistes chargés des infestations de ne jamais commencer avec un coccobacille insuffisamment exalté; il vaut mieux se donner la peine de faire deux ou trois passages de trop que de n'en pas faire assez; dans le premier cas, ce n'est qu'un retard de un ou deux jours; dans le second, c'est le résultat de toute une campagne qui peut se trouver compromis.

Il est inutile de dire que les bouteilles de bouillon devront être ensemencées purement, ce qui n'est pas facile avec des récipients munis de fermeture mécanique; on y arrive pourtant avec un peu de pratique. Quand on ouvre la bouteille pour faire les pulvérisations, on reconnaît de suite si la culture

est pure ; l'odeur ne doit rien avoir de désagréable, comme je l'ai dit aux caractères de culture. Tout récipient dont le contenu est putride doit être rejeté.

Infestations. — Le matériel nécessaire pour pratiquer les infestations se compose de pulvérisateurs et de bouillons de culture.

Le pulvérisateur est du même type que ceux qui s'emploient pour pulvériser les solutions anticryptogamiques sur les vignes et les arbres fruitiers. N'importe quelle marque convient ; j'ai employé le plus petit modèle de Vermorel, qui m'a donné satisfaction ; il serait pourtant préférable de posséder un appareil étamé intérieurement.

Il faudra bien s'assurer, au cas où le pulvérisateur ne serait pas neuf, qu'il n'ait pas contenu auparavant des solutions antiseptiques, comme le sont tous les liquides employés pour lutter contre les maladies de la vigne et des arbres fruitiers ; un tel appareil ne peut servir et doit être rejeté, ou, s'il est absolument impossible de s'en procurer un autre, devra être lavé à plusieurs reprises avec de l'eau bouillante ; et malgré des lavages répétés, il sera très difficile de le nettoyer complètement, vu les aspérités intérieures, les clapets, les robinets où les substances antiseptiques se sont desséchées.

Bouillons de culture. — La question des bouillons de culture est plus compliquée.

Théoriquement, il suffirait de quelques centimètres cubes de culture pour infester quelques sauterelles, ces insectes en contamineraient d'autres et l'épizootie suivrait son cours par contagion naturelle ; seulement, en opérant dans ces conditions, la disparition des insectes serait très longue et, de plus, on aurait de grandes chances de courir à un échec, l'épizootie pouvant s'éteindre par suite d'une foule de circonstances qu'il serait trop long d'énumérer, mais qu'un bactériologiste peut aisément prévoir. Pratiquement, il faut infester le plus grand nombre de sauterelles possible dans le plus grand nombre de bandes possible, de manière à exterminer ces insectes dans un laps de temps aussi court que possible et avec alors toute certitude que l'épizootie ne s'éteindra pas ; pour cela, il faudra employer une grande quantité de bouillon, et le problème du ravitaillement se pose.

Deux cas peuvent se présenter :

1° La région à infester se trouve à proximité d'une ligne de chemin de fer. Le bouillon se fabrique, dans ce cas, dans un laboratoire central et est envoyé là où le besoin s'en fait sentir.

Dans le commencement, le bouillon employé était le bouillon de viande peptonisé ordinaire. Ce milieu présentait un gros inconvénient, la virulence baissait rapidement, et il fallait l'utiliser dans les deux ou trois jours qui suivaient l'ensemencement. Pour remédier à ce défaut, j'ai poursuivi une série de recherches qui m'ont conduit à trouver un milieu où la virulence se conserve au moins pendant une quinzaine de jours, ce qui permet de l'envoyer déjà ensemencé sur les lieux où son emploi est nécessaire. Ce milieu, qui est préférable chaque fois qu'on pourra l'expédier d'un laboratoire, se compose de :

Eau	1.000
Peptone Chapoteau	40
Sel ordinaire	5
Gélatine	30
Glucose	5

Faire bouillir, alcaliniser légèrement, filtrer, répartir dans les bouteilles, couvrir le col et le bouchon avec un tampon de coton cardé recouvert d'un capuchon de papier parcheminé et stériliser à 120 degrés pendant une demi-heure.

La composition de ce milieu m'a été suggérée par le travail de M. Truche sur la conservation de la virulence du pneumocoque. Outre la conservation plus longue de la virulence, il offre l'avantage, grâce à sa teneur en gélatine, de se fixer plus facilement sur les herbes après pulvérisation, et grâce au glucose, les plantes arrosées sont de suite dévorées par les sauterelles, qui sont friandes de sucre.

Vers la fin de la dernière campagne en Argentine, j'ai essayé le milieu suivant :

Eau	1.000
Pommes de terre râpées	10
Peptone	5
Sel ordinaire	5
Gélatine	20
Glucose	5

Faire bouillir, alcaliniser légèrement, filtrer.

Le microbe se développe très abondamment dans ce milieu. Au laboratoire, la virulence était conservée après quinze jours. Comme il n'y avait plus de criquets, je n'ai pu vérifier si les résultats étaient bons dans la pratique.

2° Les régions envahies se trouvent à des distances telles d'une voie de communication qu'il est pratiquement impossible de recevoir le bouillon d'un laboratoire central ; dans ce cas il faut le fabriquer sur place au moyen d'appareils simples et facilement transportables ; nous reviendrons sur ce point dans le chapitre qui aura trait à l'organisation pratique de la lutte.

Infestations. — Les bouteilles de bouillonensemencées purement peuvent s'employer aussitôt que le trouble est manifeste. La culture doit toujours avoir lieu à la température ambiante, jamais à l'étuve. Le bouillon est versé dans le pulvérisateur au moment même de l'emploi. La quantité de bouillon à pulvériser varie avec l'étendue de la tache de criquets ou du vol de sauterelles : 1 litre par hectare de superficie suffit quand il s'agit de petites taches de quelques hectares ; pour les grandes taches, on pourra réduire considérablement, surtout si l'on a soin de disséminer judicieusement les foyers sur toute l'étendue, comme je l'indiquerai plus loin : par exemple, pour une tache de 100 à 200 hectares, il suffira de pulvériser en une vingtaine d'endroits différents un demi-litre chaque fois, soit en tout 10 litres. Quand il s'agit de vols qui retournent à la fin de l'été, comme on n'a pas d'intérêt, au contraire, à l'anéantir le plus vite possible, on peut réduire encore ; 1 ou 2 litres suffisent alors pour contaminer, l'épizootie se propagera ensuite peu à peu et les vols infestés la propageront au loin. En tout cas, il est certain que plus on répandra de bouillon de culture, plus la maladie s'étendra rapidement ; toutefois, à moins que l'on n'ait des raisons spéciales pour que l'épizootie atteigne rapidement tous les criquets, la quantité indiquée est suffisante. Au lieu de tout répandre dans un seul endroit forcément restreint, il est de beaucoup préférable de disséminer les foyers en pulvérisant le liquide de place en place, en choisissant les endroits où les criquets sont en plus grande quantité, et surtout en train de manger ; comme ces insectes s'infectent en mangeant les herbes souillées, on com-

prend qu'il y a tout intérêt à arroser de préférence les touffes d'herbes ou les plantes couvertes de criquets; on ne pourrait espérer obtenir de résultats favorables en pulvérisant, par exemple, une bande de ces insectes en marche sur un terrain nu. La manière de répandre le liquide importe beaucoup plus que la quantité répandue : 10 litres pulvérisés au même endroit ne produiront pas autant d'effet que 1 seul litre pulvérisé par petites fractions sur toute l'étendue de la tache; le résultat final sera le même, mais la destruction totale se produira dans un laps de temps plus considérable dans le premier cas que dans le second.

Les pulvérisations peuvent avoir lieu le matin de très bonne heure, ou le soir vers le coucher du soleil, ce dernier moment étant de beaucoup le plus favorable. La chaleur et surtout la grande lumière du jour atténuerait rapidement la virulence du bacille pulvérisé sur des plantes, à midi, en plein soleil. Dans les déjections, la virulence et la vitalité du coccobacille se maintiennent beaucoup plus longtemps qu'en bouillon. De cadavres desséchés et conservés sept mois au laboratoire, j'ai isolé des coccobacilles tuant par injection en six heures, c'est-à-dire très virulents.

Si, par suite de circonstances spéciales, on était obligé de faire des pulvérisations au milieu du jour, on devrait choisir des points à l'ombre sous des broussailles, en un mot agir de telle sorte que le virus subisse le moins possible l'atteinte de la lumière et de la chaleur.

Les infestations peuvent se pratiquer sur les criquets ou sur les sauterelles ailées adultes. Pendant les premiers jours de leur existence, les criquets jouissent d'une grande résistance à la maladie; cette résistance va en s'atténuant peu à peu et, douze à quinze jours après l'éclosion, elle est suffisamment réduite pour que la maladie se propage de suite après les infestations.

Toute bande infestée est condamnée à disparaître. Si l'infestation a lieu pendant les derniers jours de la vie larvaire, l'épizootie n'aura pas le temps de détruire toute la bande avant la dernière mue, les survivants s'envoleront, transportant avec eux les germes de la maladie et mourront peu à peu.

Modes de contagion. — Nous avons dit qu'il était inutile de répandre, en général, plus de 1 litre de culture par hectare; les insectes qui mangent les herbes souillées contractent la maladie, la diarrhée se déclare après un temps d'incubation plus ou moins long, le plus souvent quelques heures, parfois quelques jours; les déjections liquides se répandent sur les herbes, les sauterelles qui mangent ces herbes s'infectent et contaminent à leur tour de nouvelles plantes, et le cycle se continue jusqu'à disparition de la tache ou du vol. L'épizootie commence donc plus ou moins lentement, suivant les conditions favorisantes ou empêchantes que nous examinerons, augmente d'intensité, atteint son maximum du cinquième au trentième jour, puis décroît brusquement, les derniers survivants exigeant un temps relativement long pour s'infester, parce qu'ils sont plus clairsemés, la contagion étant donc plus difficile à réaliser.

Pour les *Schistocerca*, il existe un autre mode de contagion très important : les criquets et même parfois les adultes se mangent entre eux; aussitôt que l'un de ses congénères faiblit il est dévoré; ce mode de contagion peut devenir primordial dans des régions où la végétation est pauvre et où les sauterelles trouvent difficilement leur nourriture. On comprend que l'épizootie se développera plus lentement chez les espèces qui ne pratiquent pas l'acridophagie : *Stauronantus* et *Caloptenus* par exemple.

Pour *Schistocerca*, si les circonstances sont les plus favorables, une bande de criquets peut être complètement détruite en huit jours, comme j'ai observé le fait dans la province de La Rogia, en avril 1912; si ces circonstances sont moins favorables, l'épizootie traîne en longueur, tuant seulement un petit nombre de sauterelles par jour, jusqu'au moment où, une circonstance favorisante survenant, la maladie se répand brusquement; c'est ce qui s'est passé dans la région de Rafaela en décembre 1912 : pendant les vingt jours qui suivirent les infestations, la maladie se propagea lentement, tuant chaque jour un petit nombre d'insectes, puis augmenta peu à peu d'intensité; au vingt-cinquième jour, l'épizootie était à son apogée dans un rayon d'une dizaine de kilomètres autour de chaque foyer d'infestation.

Les principaux facteurs qui influent sur la marche de l'épizootie sont :

1° La température ambiante, importante dans le cas des insectes dont la température interne est à peu près celle du milieu extérieur. Nous avons vu que le coccobacille se reproduit de 16 à 43 degrés, l'épizootie peut donc se propager entre ces températures limites ; mais plus on se rapprochera de la température optima, c'est-à-dire dans les environs de 28 à 30 degrés, plus la marche de la maladie sera rapide.

2° La période de la vie de l'insecte : criquet ou sauterelle adulte, et pour chacune de ces périodes, l'âge. Les criquets sont continuellement en contact avec les herbes, marchent en colonnes très denses, pressés les uns contre les autres, sont doués d'un appétit vorace, subissent dans le court intervalle de leur vie larvaire, cinq mues, qui sont autant de périodes de moindre résistance ; les sauterelles ailées, au contraire, passent une bonne partie de leur vie dans l'air, ne sont que rarement pressées les unes contre les autres et seulement quand le temps est froid ; elles mangent beaucoup moins que les larves : l'épizootie aura bien plus de tendance à se généraliser parmi les bandes de criquets que sur les vols de sauterelles adultes qui pourtant, individuellement, sont plutôt moins résistantes que les criquets. L'âge influe également : les jeunes criquets ou mouches jouissent d'une résistance maxima, qui va s'atténuant peu à peu et arrive à être minima vers l'époque de la dernière mue ; pour la sauterelle adulte, l'époque de la ponte est un moment de moindre résistance.

3° La plus ou moins grande abondance de nourriture, qui fait que l'insecte est plus ou moins résistant. J'ai déjà signalé que le manque de nourriture incite les criquets de *Schistocerca* à l'acridophagie, circonstance éminemment favorisante.

4° La densité des vols ou des bandes ; plus la tache ou le vol est compact, plus l'épizootie aura de chances de se répandre rapidement. Si les sauterelles sont très dispersées, comme cela arrive pour certaines espèces, l'épizootie pourra durer des mois.

Une très forte pluie peut paralyser pendant quelques jours la marche d'une épizootie : la pluie lave les herbes souillées par les déjections, empêchant par conséquent ce mode de

contagion; l'épizootie reprend ensuite peu à peu son cours normal. J'ai observé, au contraire, qu'une pluie de peu de durée était plutôt une circonstance favorisante.

Un fait assez curieux se passe quand une bande de criquets infestés rencontre sur sa route une rivière : on trouve sur la rive un véritable amoncellement de cadavres, sur la seconde rive également de nombreux cadavres, mais en nombre pourtant moindre, puis plus rien : l'épizootie semble s'arrêter complètement; elle ne recommence qu'après quelques jours et reprend alors son cours normal. Que s'est-il passé? Il est aisé de le comprendre : tous les criquets déjà fort atteints ne peuvent fournir l'effort nécessaire et meurent sans pouvoir franchir l'obstacle ; ceux qui n'étaient que faiblement atteints peuvent passer, mais affaiblis par l'effort, meurent sur la rive opposée, la colonne qui poursuit sa marche est alors composée uniquement de sujets sains et des quelques criquets dont l'infection commence à peine, l'épizootie subit donc un temps d'arrêt.

Pour toutes les raisons qui viennent d'être exposées, il est impossible de fixer, pour tous les cas qui peuvent se présenter et pour toutes les espèces de sauterelles, un laps de temps à la durée d'une épizootie; dans chaque bande, dans chaque vol, la marche en est réglée par des circonstances qui varient dans chaque cas et empêchent de fixer une règle générale, ce sera parfois une question de quelques jours, le plus souvent de quelques semaines : trois ou quatre ; rarement de quelques mois. La durée de l'épizootie est d'ailleurs de peu d'importance, le but n'est pas et ne peut être de tuer pour protéger des cultures ; un virus n'est pas un poison foudroyant, mais l'objectif doit être d'arriver en deux, trois ou quatre ans, à réduire tellement le nombre des sauterelles que ces insectes cessent d'être un fléau. Si l'épizootie se propageait assez rapidement pour tuer dans tous les cas les bandes entières en cinq ou six jours, comme cela arrive parfois, la propagation de l'épizootie à distance et sa conservation d'une année à l'autre ne seraient pas possibles.

Propagation de la maladie à distance. — On devra toujours avoir soin d'infester les vols de sauterelles ailées que l'on aura l'occasion de rencontrer, pour assurer la propagation à distance

de l'épizootie, grâce aux longs parcours faits par les vols en peu de temps et à leurs fréquents déplacements. En février 1912, j'ai isolé le coccobacille de cadavres de sauterelles mortes dans la province de Cordoba, à environ trois cents kilomètres du point infesté le plus proche une quinzaine de jours auparavant. Des vols infestés en octobre 1912 près de Reconquista sont allés mourir une quinzaine de jours plus tard de l'autre côté du Panama, à une centaine de kilomètres. A la même époque, un vol infesté près de Palacios (Santa Fé), meurt dix jours après, près de Esperanza, à une quarantaine de kilomètres. Un vol important est infesté près de Reconquista, fin janvier, son passage est signalé près de Rafaela le 27 février; le 6 mars, il se pose près de Recreo, où il reste trois jours : quand il reprend son vol, il laisse des quantités de cadavres et de malades sur les lieux, d'où l'on isole le coccobacille; la distance entre Recreo et Reconquista est, à vol d'oiseau, de 550 kilomètres.

La biologie de l'acridien considéré a une grande importance pour la propagation à distance; plus l'insecte est voyageur, plus cette propagation a lieu rapidement. Les *Schistocerca*, qui se déplacent en quelques jours de plusieurs centaines de kilomètres, sont ceux qui propagent l'épizootie en un minimum de temps; avec les *Stauronautus*, la dissémination sera plus lente quoique encore assez rapide; avec certaines espèces locales, comme *Caloptenus* sp., du sud de la République Argentine, qui meurent à quelques kilomètres du point où elles sont nées, cette dissémination ne se fera que très lentement. Comme conséquence pratique, plus une espèce est sédentaire, plus il faut multiplier les foyers d'infestation.

Conservation d'une année à l'autre. — Comme nous l'avons vu, les jeunes sauterelles, par suite de leur mode de vie, s'infectent plus difficilement que les criquets et le cours de l'épizootie est très lent dans les vols : il peut se passer parfois plusieurs mois avant que la dernière sauterelle périsse.

On pourrait objecter à cela qu'on a observé, principalement en décembre 1912 dans la région de Rafaela, une propagation extrêmement rapide de l'épizootie sur de jeunes sauterelles, à tel point que tous les vols qui se trouvaient dans la région ont

été entièrement détruits en quelques jours (1); le cas est spécial, car il s'agissait de bandes qui avaient été infestées à l'état de criquets avant la dernière mue, l'épizootie s'était propagée d'abord sur ces criquets; est survenue la dernière mue, qui les a placés dans un état de moindre résistance, causant une mortalité très élevée, et les criquets qui ont pu accomplir leur dernière mue étaient déjà en grande partie contaminés quand ils sont arrivés à l'état adulte; cela ne prouve pas que la sauterelle soit plus sensible que le criquet et que l'épizootie se propage plus rapidement sur les vols que sur les bandes, mais simplement que la mue est une période critique, comme il fallait d'ailleurs s'y attendre (2); les choses ne se passent pas de même quand on infeste des insectes déjà arrivés à l'état adulte; quand les infestations ont lieu sur de vieilles sauterelles arrivant du Nord, l'épizootie peut alors être très rapide, car la sensibilité de ces vieilles sauterelles paraît être très grande, et de plus elles ne volent plus en ordre dispersé comme les jeunes qui vont au Nord, mais en vols très compacts, ce qui favorise la contamination.

Au Yucatan, l'épizootie a commencé en 1908 à sévir sur quelques bandes; lors de l'invasion de 1909, un grand nombre de bandes étaient contaminées et, en 1910, l'épizootie était généralisée: seule la sauterelle ailée avait pu conserver le virus d'une année à l'autre.

Dans la République Argentine, le même fait s'est passé en 1912. Le premier vol d'invasion a été constitué par un vol provenant des provinces du Nord et s'est abattu en septembre 1912 sur les environs de Rio Cuarto; en novembre, j'ai trouvé

(1) Rapport des inspecteurs Tribodi et Barbesino au ministère de l'Agriculture de la République Argentine, décembre et janvier 1912 et 1913.

(2) M. Kunkel d'Herculais, dans une Note à l'Académie des Sciences (*Comptes rendus*, 6 mars 1899), considère la mue chez les insectes comme un moyen de défense contre les parasites végétaux ou animaux; cela est très vrai en ce qui concerne les champignons dont les spores se fixent sur les téguments et sont expulsées lors de la mue avant d'avoir eu le temps de germer, ainsi que pour les parasites animaux du tube digestif expulsés lors de la mue trachéale et intestinale; la mue ne sert par contre à rien à l'insecte quand il est attaqué de la maladie causée par le coccobacille qui, outre l'affection intestinale, cause une septicémie généralisée à tous les organes. La mue, protection pour l'insecte contre les mycoses et les parasites animaux, est une cause de moindre résistance dans le cas des maladies bactériennes causant une septicémie.

de vieilles sauterelles mortes et malades et j'ai isolé le coccobacille du liquide de diarrhée. En janvier 1913, une forte épizootie fut signalée dans ces régions, sévissant sur les criquets nés des pontes laissées par ces sauterelles de l'invasion de septembre; comme, intentionnellement, aucune infestation n'avait eu lieu dans la contrée, il faut bien admettre que le virus provenait des infestations de l'année précédente (1).

Comment se conserve le virus pendant l'incubation? De trois manières différentes.

Une bande de sauterelles dans laquelle sévit la maladie laisse des cadavres sur les lieux de ponte; j'en ai trouvé précisément à Sampacho, dans le département de Rio Cuarto; le microbe se maintient très longtemps virulent dans les cadavres, comme je l'ai indiqué, il est donc présent dans les champs au moment de l'éclosion des jeunes criquets.

Au moment de la ponte, si la femelle, ou même le mâle, est atteint, les œufs seront forcément souillés par le liquide de diarrhée, et le coccobacille se conservera jusqu'au moment de l'éclosion sur les œufs et dans la matière mucilagineuse sécrétée par la sauterelle pour protéger sa ponte.

Les porteurs de germes doivent entrer pour beaucoup dans la conservation du virus d'une année à l'autre, ainsi que pour la propagation à distance de l'épizootie; dès ma première note, j'ai en effet signalé que des sauterelles ramassées dans les bandes malades au Yucatan présentaient dans leur intestin le coccobacille spécifique virulent, quoique ces sauterelles ne présentassent aucun symptôme de la maladie. J'ai, depuis, constaté le même fait en Argentine dans les bandes contaminées, mais, malgré de nombreuses recherches, je n'ai jamais trouvé

(1) Inutile de dire que jamais on n'avait signalé dans la République Argentine d'épizooties sévissant chez les sauterelles avant les infestations de janvier 1912, et pourtant depuis plus de vingt ans la lutte contre la sauterelle était menée scientifiquement d'une manière très active. Un laboratoire spécial avait été fondé dès 1898 pour l'étude spéciale de la biologie et de la pathologie de la sauterelle (M. Kunckel d'Herculais, assistant au Muséum d'Histoire naturelle de Paris, l'avait fondé et dirigé pendant trois ans), tous les parasites y ont été successivement étudiés, plus de deux mille employés de la « Défense agricole », qui relève du Ministère de l'Agriculture, ont chaque année parcouru le pays en tout sens, ayant comme unique mission d'observer la sauterelle; c'est dire qu'une épizootie n'aurait pu passer inaperçue.

de criquets présentant cette particularité, qui semble propre à la sauterelle adulte.

Appréciation des résultats. — Pour apprécier la marche d'une épizootie, il faut avoir présentes à l'esprit les circonstances suivantes.

Les criquets se mangent entre eux, du moins dans le genre *Schistocerca*, c'est-à-dire qu'il ne faudra espérer trouver des cadavres en grand nombre que si l'épizootie est à son apogée ; de plus, les oiseaux et surtout les autres insectes, fourmis, en particulier, font rapidement disparaître la grande majorité des cadavres.

Quand une bande est en mouvement, il faudra se rappeler que les cadavres se disséminent sur tout le parcours. Supposons une bande de criquets compacte, soit mille insectes au mètre carré ; supposons en outre que, les circonstances étant les plus favorables possible, l'épizootie ne dure que dix jours, au bout desquels il ne reste plus un seul insecte vivant, et, finalement, que pendant ce laps de temps, la bande parcourt dix kilomètres, et sans s'étendre ; comme on le voit, on trouvera rarement des conditions plus favorables et on pourrait s'attendre à trouver de nombreux cadavres. Eh bien, il n'y a qu'à effectuer un petit calcul pour voir qu'on ne trouvera sur le parcours qu'un seul cadavre par dix mètres carrés, et en supposant, ce qui ne sera jamais le cas, qu'aucun ne soit jamais mangé. Un cadavre par dix mètres carrés, c'est dire qu'il faudra chercher bien attentivement pour arriver à trouver quelques rares sauterelles mortes. Que l'on réduise si l'on veut le parcours, que l'on suppose que la tache de criquets ne parcourt qu'un seul kilomètre en dix jours, ce qui s'est rarement vu, on ne trouvera encore qu'un seul cadavre par mètre carré, et un observateur non préparé affirmera que l'épizootie ne s'est pas développée, et pourtant tout sera mort et dans des conditions idéales pour qu'on trouvât facilement les cadavres. On comprend aisément que, dans la pratique, où l'épizootie dure souvent presque un mois, pendant lequel la bande parcourt plusieurs kilomètres en s'éparpillant, se fractionnant, chaque fraction se réunissant bientôt à des fractions d'autres bandes, où une grande partie des cadavres sont dévorés par les mêmes criquets, par les oiseaux et les insectes, il devient pour ainsi dire impossible de

trouver des morts. On m'objectera peut-être que, ne retrouvant plus la tache, on pourra toujours conclure à sa destruction : c'est une erreur, car celui qui sera chargé de cette recherche admettra, *a priori*, que, ne retrouvant pas de morts, les criquets doivent être encore en vie et que la bande doit s'être cachée dans un endroit ou un autre, à moins que, à deux ou trois lieues à la ronde, il ne trouve une autre bande, auquel cas il affirmera que c'est celle qui a été infestée (1).

Tout ce que je viens de dire s'applique surtout à *Schistocerca*; pour les criquets d'espèces parcourant des distances plus réduites, ne se mangeant pas entre eux, on peut retrouver alors de nombreux cadavres, comme cela est arrivé lors des infestations en Algérie et à Chypre avec *Staurogaster maroccanus* et dans le sud de l'Argentine avec *Caloptenus*.

Vérification de la marche de l'épizootie. — L'unique moyen de se rendre compte de la marche de l'épizootie et du degré d'infestation des bandes consiste à recueillir une centaine de sauterelles ou de criquets vivants et de voir combien présentent la diarrhée caractéristique; tout insecte qui montrera par légère compression sur l'abdomen la gouttelette liquide sortant de l'anus est atteint et destiné à mourir dans les vingt-quatre heures. Si, par exemple, cinq jours après les infestations, on trouve que quatre sauterelles sur cent ont la diarrhée, on peut être certain que le lendemain ces quatre insectes seront morts; supposons que le lendemain six sauterelles sur cent présentent la goutte liquide, on saura que l'épizootie augmente d'intensité; enfin si le jour suivant on observe le même symptôme chez seize insectes sur cent, on saura que le lendemain vingt-six pour cent de la bande auront été détruits, et ainsi de suite; en un mot, on connaîtra à chaque instant l'état sanitaire de la tache, la mortalité des vingt-quatre heures suivantes, et, en addition-

(1) Pour montrer avec quel soin il faut se méfier des fausses interprétations des résultats, je citerai le cas suivant, qui est typique. En octobre 1912, le directeur de l'Agriculture de la République Argentine charge un ingénieur agronome d'infester près de Reconquista un vol de vieilles sauterelles qui vient d'arriver du Nord; cet employé remplit sa mission et avise que l'infestation n'a donné aucun résultat. Quelque temps après, me trouvant dans cette région, je m'informe, et j'apprends que le vol, posé sur des arbres, a été infesté le soir entre six et sept heures, et que toutes les sauterelles ont repris leur route le lendemain matin au lever du soleil! Il n'était réellement pas étonnant qu'en une dizaine d'heures on n'ait pu observer aucun résultat.

nant, la mortalité depuis l'infestation. On pourrait également capturer cent criquets ou sauterelles en vie, les mettre en cage et compter les morts qui surviennent dans les trois jours; dans le premier cas, on ne tient compte que des insectes déjà atteints de diarrhée, dans le second, de toutes celles qui se sont infestées.

On devra avoir soin de recueillir les cent sauterelles ou criquets, non pas à la même place, mais une d'un côté, l'autre de l'autre, sur tout l'espace occupé par la bande ou le vol, de manière à obtenir une moyenne se rapprochant le plus possible de la réalité, car l'infection sera également répartie sur toute l'étendue occupée par ces insectes, mais sévira avec plus d'intensité sur un point que sur un autre; en prélevant toutes les sauterelles à la même place, on risquerait fort de se tromper en plus ou en moins.

Ce procédé est le seul qui puisse donner des renseignements sûrs et précis. On pourrait faire suivre, bien entendu, la tache jour et nuit, jusqu'à son extermination complète, ce qui est parfaitement possible pour un essai, mais impossible dans la pratique courante des infestations.

Coccobacille à son maximum d'exaltation. — J'ai indiqué une méthode d'exaltation de la virulence du coccobacille au laboratoire; c'est la seule méthode applicable au commencement d'une campagne, mais quand les infestations ont été commencées, il est de beaucoup préférable de ramasser dans les bandes où sévit l'épizootie des sauterelles malades, d'isoler du contenu intestinal de ces insectes le microbe spécifique suivant la technique qui a été indiquée, et d'ensemencer les bouillons destinés aux infestations subséquentes avec ces cultures. Comme je l'ai dit, il est difficile de dépasser au laboratoire une virulence moyenne, correspondant à la mort de l'insecte sept à huit heures après l'inoculation; avec le coccobacille provenant de sauterelles recueillies dans les bandes infestées quelques jours auparavant, j'ai pu souvent tuer en trois heures et demie; on a donc tout avantage à employer un tel virus à son maximum d'exaltation.

Vérification de la présence du coccobacille dans les cadavres. — Il arrive souvent que l'on ait à rechercher la présence du coccobacille dans des cadavres de sauterelles, de chenilles ou

d'autres insectes recueillis dans les champs déjà desséchés, ou envoyés au laboratoire de régions éloignées ; dans ces cas, il serait très difficile, parfois impossible, de rechercher directement le coccobacille. La méthode suivante m'a donné de très bons résultats et m'a permis d'isoler le microbe de débris de cadavres de sauterelles ou de chenilles mortes depuis plusieurs mois.

Triturer dans un petit mortier ou dans un verre les débris de cadavres avec quelques centimètres cubes de bouillon, et injecter une ou deux gouttes du liquide trouble à quelques sauterelles ; s'il s'agit du coccobacille des sauterelles, ces insectes ne tarderont pas à montrer la diarrhée caractéristique suivie de mort, et du contenu intestinal on pourra isoler le microbe spécifique.

Pour identifier le bacille, on peut avoir recours au séro-diagnostic ; injecter à un lapin dans la veine de l'oreille, à cinq à six reprises différentes, avec un intervalle de sept jours entre chaque injection, une émulsion de coccobacille des sauterelles type, et avec le sérum de ce lapin préparé, pratiquer la réaction d'agglutination suivant la technique ordinaire, avec le coccobacille que l'on veut identifier. Il est bon de faire la première injection avec une émulsion chauffée dix minutes à 70 degrés, pour éviter les abcès qui se produisent parfois quand on injecte d'emblée des bacilles vivants.

Conduite des expériences préliminaires. — Il pourra être utile dans quelques circonstances de pratiquer des expériences préliminaires, par exemple pour vérifier le pouvoir pathogène sur une nouvelle sorte d'acridien, ou pour étudier la marche de l'épizootie dans des régions où les conditions sont très différentes de celles où le coccobacille a été appliqué jusque-là ; de telles expériences on peut tirer des renseignements utiles pour la conduite des infestations sur une grande échelle.

Je tiens tout d'abord à appeler l'attention sur le fait que des essais d'infestation en cage ne donnent que des résultats imparfaits sur lesquels on ne peut se baser ; d'une part, les insectes se trouvent dans des conditions de vie anormales et une mortalité élevée ne prouverait pas grand'chose ; d'un autre côté, il pourrait se faire que la contagion se fasse très lentement, car les insectes s'alimentent en général mal en captivité ; de plus, ils ne se déplacent pas, restent continuellement immo-

biles dans le même coin de la cage, toutes conditions défavorables pour la marche d'une épizootie où la contagion se fait *per os* au moyen des déjections des malades. J'ai vérifié à plusieurs reprises que la mortalité chez les témoins était presque aussi considérable que chez les infestés dans de telles conditions. Pour toutes ces raisons, il est bien préférable de pratiquer les essais de la manière suivante.

Choisir une petite tache de criquets d'un quart à un demi-hectare de superficie, ou détacher une telle portion d'une grande tache, l'enfermer entre barrières de zinc de hauteur suffisante pour qu'aucun ne puisse s'échapper, et avec un espace suffisamment étendu pour que les insectes puissent trouver une nourriture abondante. Pratiquer les infestations comme il a été dit.

On peut enfermer une tache témoin de même étendue, en prenant bien soin de faire cet essai témoin à une distance de plusieurs kilomètres du premier, de manière à ce que des criquets malades qui pourraient s'échapper du premier enclos n'aillent pas contaminer des témoins. Inutile de dire également que cet essai n'aura de valeur que si la région est vierge d'infestations depuis plusieurs années, et située à plusieurs milliers de kilomètres d'une telle région ; nous avons vu avec quelle rapidité se propage l'épizootie par les vols. Pour la même raison, il faudra de plus s'assurer que des sauterelles ailées ne sont pas mêlées aux criquets ni ne se trouvent dans les environs, car la maladie pourrait alors facilement être transportée dans l'enclos témoin.

A titre d'indication, je dirai que de semblables essais préliminaires eurent lieu en janvier 1912 dans la province de Santa Fé ; tous les criquets en expérience étaient morts le dixième jour. Les criquets étaient à la dernière période. Une autre expérience fut faite en avril dans la province de La Rioja, sur des criquets arrivés à la troisième mue ; tous moururent également dans le même temps.

Un second mode d'expérience, qui se rapproche encore plus de la réalité, consiste à infester une tache de criquets en liberté et la faire suivre continuellement ; la surveillance est facilitée en établissant une ligne de barrières de zinc de manière à ce que la tache marche continuellement dans une espèce d'avenue ; la largeur de cette avenue varie naturellement avec l'impor-

tance de la bande, mais, en tous cas, elle doit être assez large pour que les insectes ne gênent pas mutuellement et puissent trouver abondamment leur nourriture.

En avril 1912, dans la province de La Rioja, une tache de 4 hectares environ d'étendue, infestée avec quatre litres de bouillon de vingt-quatre heures, fut suivie; les derniers criquets moururent huit jours après l'infestation. Je m'empresse de dire que toutes les circonstances favorisantes se trouvaient réunies et que ce n'est que rarement que l'épizootie se répandra aussi rapidement.

De semblables essais ont l'avantage de se rapprocher le plus possible des conditions naturelles et l'on peut en toute confiance s'appuyer sur eux pour les infestations sur une grande échelle.

Pour des essais à effectuer sur d'autres insectes que les acridiens, l'expérimentateur devra s'inspirer des circonstances, observer les mœurs de l'insecte, se posant comme condition première de se rapprocher le plus possible du mode de vie naturelle; on n'a qu'à réfléchir un instant aux nombreux facteurs qui interviennent dans la marche d'une épizootie pour voir que le moindre écart entre les conditions de vie de l'insecte dans la nature et celles que l'on voudrait lui imposer dans une expérience peuvent fausser complètement les résultats dans un sens ou dans l'autre.

Particularités observées pendant le cours des épizooties. — Dans les vols de sauterelles infestés peu de temps avant la ponte, de nombreuses femelles pondent des œufs qui n'arrivent pas à maturité; d'autres femelles n'arrivent pas à pondre et les œufs sont transformés dans le corps même de l'insecte en une masse noirâtre; les bandes où s'est observé ce phénomène ont été complètement anéanties quelques jours après, tuées par l'épizootie (1).

Les bandes de criquets infestés ne mangent presque pas, et, par conséquent, ne causent que peu de dégâts (2); elles se déplacent, en général, beaucoup moins que les bandes saines, et on observe le cas de bandes qui restent dans le même endroit depuis le moment de l'infestation jusqu'à ce que l'épizootie ait

(1 et 2). Divers rapports des inspecteurs du Ministère de l'Agriculture de la République Argentine, entre autres ceux de l'inspecteur de zone Tribodi et de l'inspecteur de Elia.

accompli son œuvre ; ce dernier fait n'est pourtant pas général et j'ai vu des bandes se déplaçant rapidement, quoique fortement contaminées ; je crois que l'état du terrain influe sur ces déplacements, car j'ai remarqué que si des bandes sont infestées dans des champs couverts de végétation, elles se déplacent peu, au contraire elles continuent leur chemin si la végétation est pauvre ; la question nourriture ne me paraît pas avoir grande importance pourtant, il s'agirait plutôt d'une question d'ombrage.

Dans les bandes de criquets infestés quelques jours avant la dernière mue on observe de nombreuses sauterelles adultes anormales ; les ailes sont peu développées et atteignent à peine la moitié de la longueur ordinaire ; elles ne peuvent voler ; de plus, l'examen microscopique des organes génitaux montre une atrophie complète. Il faudrait rapprocher ces faits de la castration parasitaire décrite par Giard chez des mollusques et chez des insectes parasités par des larves, et de l'apténie décrite par Kunckel d'Herculais, précisément chez des *Schistocerca* parasités par des larves de *Sarcophaga*. Les maladies microbiennes seraient donc également capables de produire ces phénomènes.

Insectes sensibles. I. Acridiens. — Le coccobacille des sauterelles doit être pathogène pour toutes les espèces d'acridiens. D'après les campagnes conduites jusqu'à ce jour dans les différents pays, il résulte que les espèces suivantes sont sensibles.

Schistocerca americana. — Épizootie naturelle au Yucatan de 1908 à 1914. Épizootie provoquée dans la République Argentine en 1912.

Caloptenus sp? (*vulgo Tucura*). — Épizootie provoquée en décembre 1912 dans la région du Rio Negro, République Argentine (1).

Stauronautus maroccanus, épizooties provoquées en 1913 en Algérie dans la province d'Oran, et dans l'île de Chypre (2).

II. Fourmis. — En juillet 1914, j'ai effectué quelques essais sur une petite fourmi de la région parisienne ; huit jours après les infestations, les fourmilières étaient vides.

(1) Rapport de M. le Dr Laure, au ministère d'Agriculture de la République Argentine.

(2) Rapport de M. W. Francis, Government analyst, à S. Exc. le Gouverneur de Chypre.

J'ai répété le même essai près de Buenos Aires, dans la propriété *La Martona*, de M. Casares, sur *Selenopsis gemminata*. En janvier 1912, huit fourmilières furent infestées chacune avec quelques centimètres cubes de culture; elles se trouvaient au milieu d'un champ contenant une grande quantité de fourmilières éparses. Huit jours après, aucune modification n'avait été observée; deux jours plus tard, c'est-à-dire dix jours après les infestations, six de ces fourmilières étaient vides. Deux mois plus tard, toutes les fourmilières, dans un rayon de 100 mètres des premières infestées, furent trouvées également vides; en dehors de ce rayon, les fourmilières étaient en état d'activité normale; l'épizootie avait gagné peu à peu (1).

M. Lynch, entomologue, essaya d'infester au Chaco des fourmilières d'*Atta sexdens*; les fourmis restèrent inactives pendant plus de vingt jours après infestation, les fourmilières voisines servant de témoins étant dans un état d'activité normale; après ce laps de temps tout rentra dans l'ordre. Les fourmis avaient certainement été atteintes, mais s'étaient remises. Le virus provenait de la sauterelle, sans passages par fourmis, et était en culture depuis plusieurs jours, c'est-à-dire assez atténué (4).

En mai de la même année, à Tucuman, je commençais des passages par *Atta*, pour essayer d'exalter la virulence pour cet insecte, véritable fléau pour toutes les contrées tropicales et subtropicales de l'Amérique. La première série mourut en trente-six heures, avec la particularité que le thorax et la tête fourmillaient de coccobacilles en culture pure, tandis que l'intestin n'en contenait aucun, ce qui était sans doute dû au fait que la réaction du contenu intestinal est acide chez cette fourmi et celle des autres parties du corps alcaline. Obligé de rentrer en France, je chargeai M. Morales de continuer les passages; il parvint à obtenir une virulence capable de tuer les *Atta* en quatre heures, avec pullulation du coccobacille, même dans l'intestin. Ces essais seraient à reprendre, car il est probable qu'on pourrait obtenir un résultat pratique.

(1) Rapport de M. Brethes, entomologue du Ministère de l'Agriculture de la République Argentine.

(2) Rapport de l'inspecteur d'Agriculture M. Lynch Arribalzaga.

Il y aurait lieu également d'étendre les recherches à d'autres insectes nuisibles, les termites en particulier (1).

III. *Chenilles*. — En février 1912, M. Lynch essaya l'effet du coccobacille sur les chenilles qui ravagent les plantations de cotonnier; quatre jours après l'infestation, toutes les chenilles étaient mortes dans le champ en expériences; un champ voisin traité en même temps avec une solution de vert de Paris contenait encore de nombreuses chenilles vivantes.

Lors des infestations dans la région du Rio Negro sur les bandes de *Caloptenus*, les champs étaient couverts de chenilles; quelques jours après, on constata que toutes les chenilles étaient mortes dans les endroits où avaient eu lieu des infestations; j'isolai le coccobacille des cadavres qui me furent remis (2).

Vertébrés réfractaires. — *Oiseaux*. — Les oiseaux sont complètement réfractaires. Des poules nourries exclusivement pendant un mois avec des sauterelles mortes de la maladie au laboratoire, ne furent aucunement incommodées; elles furent gardées à vue pendant quatre mois.

Une poule et un poulet reçurent chacun une injection de deux centimètres cubes de culture de vingt-quatre heures en bouillon dans les muscles pectoraux; ils ne présentèrent aucun symptôme de maladie pendant les quatre mois suivants.

Mammifères. — Six cobayes reçurent chacun 5 cent. cubes de culture en bouillon de vingt-quatre heures en injection hypodermique, sans résultat.

Deux lapins reçurent pendant huit jours pour unique nourriture de l'herbe arrosée de bouillon de culture, ils furent ensuite maintenus pendant un mois en observation; ils ne présentèrent rien d'anormal.

Deux lapins ne présentèrent aucune réaction après injection sous-cutanée de 5 cent. cubes de culture. Quatre autres lapins,

(1) En juin 1913, dans un hôtel particulier, à Paris, dont les communs étaient envahis depuis de longues années par les fourmis, on répandit un peu de culture en bouillon glucosé sur les chemins suivis par ces insectes : quelque temps après les fourmis disparurent.

(2) Rapport de l'ingénieur agronome Campolietti au Ministère de l'Agriculture de la République Argentine.

avec la même dose, présentèrent un abcès à pus consistant au point d'inoculation, abcès qui se résorbèrent peu à peu en quelques jours.

Plusieurs fois des pulvérisations abondantes ont été faites intentionnellement dans des enclos où paissaient des troupeaux de vaches, de chevaux et de moutons; aucun malaise n'a jamais été signalé chez ces animaux.

Pour l'homme, les employés chargés des pulvérisations ont eu souvent les mains et même parfois le visage baignés par le liquide. J'ai vu des ouvriers manger avec leurs doigts, les mains complètement mouillées de bouillon de culture, jamais aucun malaise n'a été signalé. Moi-même, intentionnellement, n'ai jamais pris aucune précaution en manipulant les bouillons de culture, je n'ai jamais ressenti aucun trouble.

Chose étrange : le rat d'égout, si résistant aux infections, a été le seul animal, les insectes exceptés, que j'aie réussi à contaminer par injection hypodermique. L'animal meurt, après injection de 1/4 de cent. cube de culture de vingt-deux heures ayant subi quatre passages par rat, en trois heures et demie, avec septicémie généralisée : le coccobacille se trouve en culture pure dans le sang du cœur. J'espérais obtenir, après plusieurs passages, un virus capable de tuer cet animal *per os*; tout fut inutile. J'ai nourri pendant plus d'un mois des rats avec des grains arrosés de culture, leur donnant comme boisson du bouillon virulent; je n'ai pu relever chez ces animaux aucun trouble, et, après le mois, ils avaient engraisé.

(A suivre.)

Le Gérant : G. MASSON.

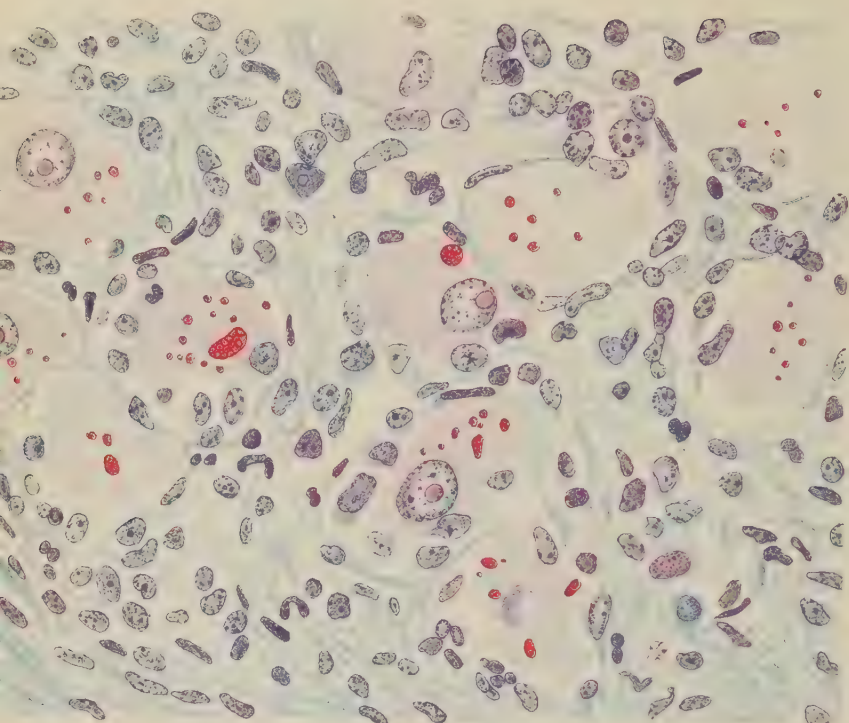


Fig 1

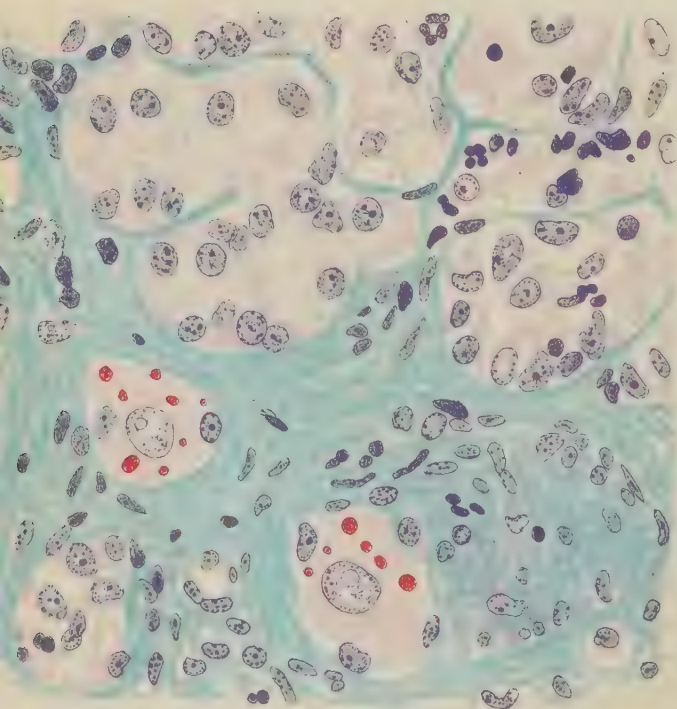


Fig. 2.

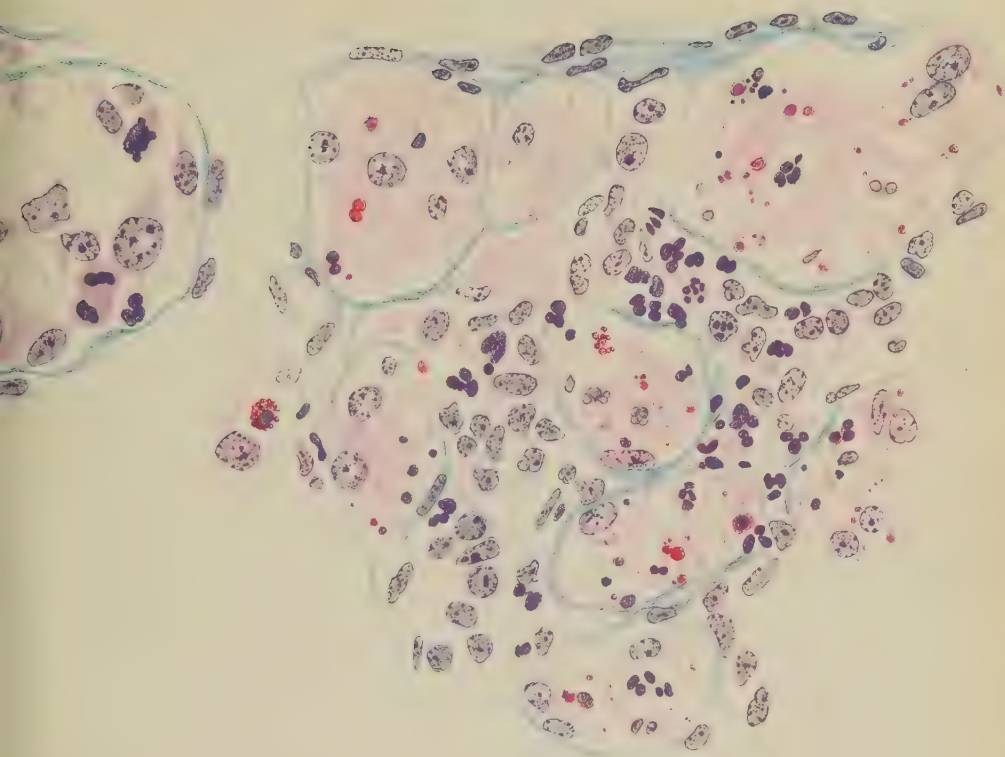


Fig. 3.

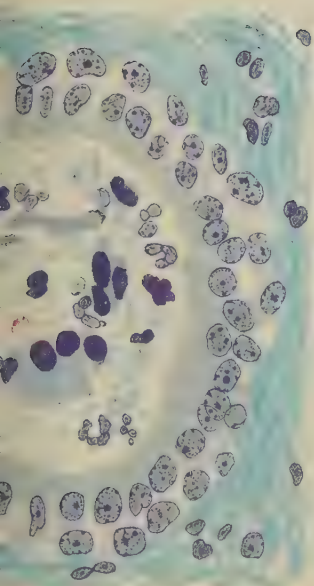


Fig. 5

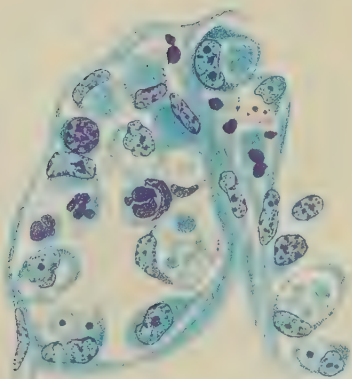


Fig. 6

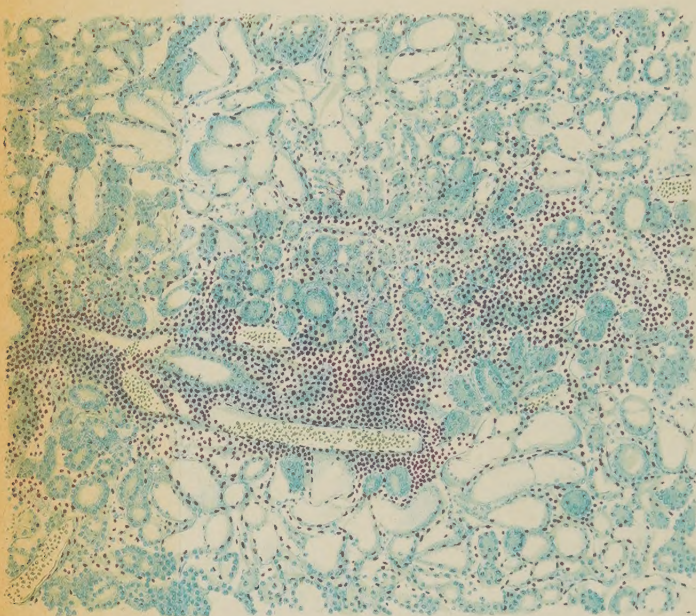


Fig. 7.

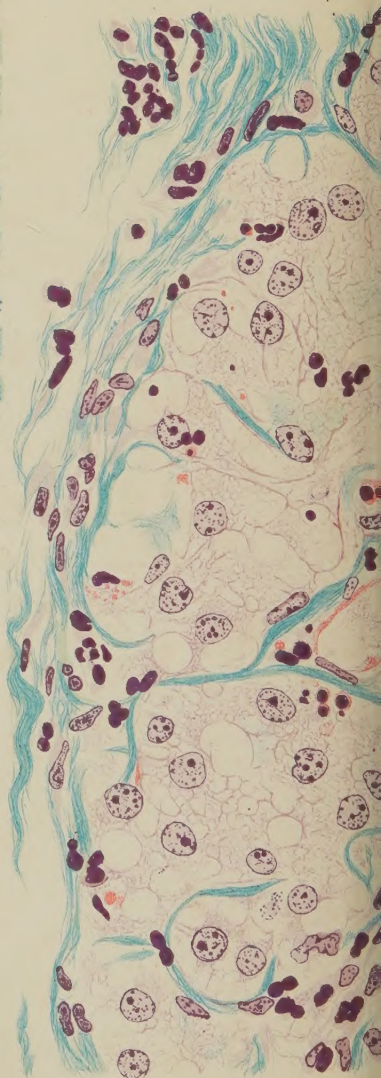


Fig. 8.

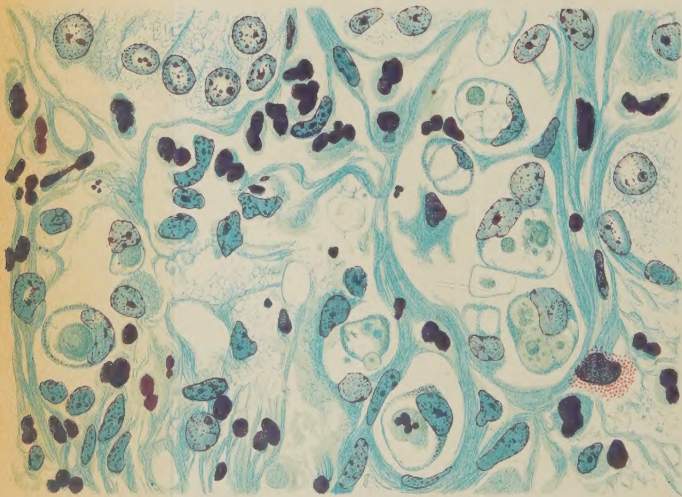


Fig. 9.

